

AMINOSÄUREN
BEI CHRONISCHER NIERENINSUFFIZIENZ

Werner Winkelmann

1977

Dissertations- und Fotodruck Anneliese SCHUBERT
8 München 5 • Corneliusstraße 21 • Tel.: 268177

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor : Professor Dr. E. Buchborn

Aminosäuren bei chronischer Niereninsuffizienz

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Werner Winkelmann

aus

Geiselhöring

München 1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter : Priv.Do. Dr. E. Held

Mitberichterstatter : Professor Dr. E. Buchborn

Dekan : Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 14.4.1977



Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B I. Methodik	8
1. Probenvorbereitung	8
2. Durchführung der Analysen	10
3. Auswertung und statistische Methoden	11
C I. Plasmaamino-säuren bei Normalpersonen	13
1. Untersuchungsgut	13
2. Ergebnisse und Vergleich mit in der Literatur mitgeteilten Werten	13
II. Plasmaamino-säuren bei chronischer Nieren- insuffizienz	15
1. Patienten im Stadium der kompensierten Retention harnpflichtiger Substanzen	15
2. Patienten im Stadium der terminalen Niereninsuffizienz (Dialysepatienten)	15
3. Statistischer Vergleich der Aminosäure- profile von Normalpersonen, chronisch Nie- reninsuffizienten im Stadium der kompen- sierten Retention und Dialysepatienten	16
4. Vergleich von Plasmaamino-säurequotienten von Normalpersonen, konservativ behandel- ten chronisch Niereninsuffizienten und Dialysepatienten	16
4.1. Tyrosin / Phenylalaninquotient	16

4.2. Glycin / Serinquotient	17
-----------------------------	----

III. Aminosäureprofile in Erythrozyten bei Normalpersonen und chronisch niereninsuffizienten Patienten im Stadium der kompensierten Retention	21
---	----

1. Methodik	21
-------------	----

1.1. Probenvorbereitung	21
-------------------------	----

1.2. Elimination störender Substanzen	21
---------------------------------------	----

1.3. Durchführung einer Kontrollanalyse	22
---	----

2. Vergleich der intraerythrozytären Aminosäureprofile mit Plasmawerten (Normalpersonen)	22
--	----

3. Vergleich der intraerythrozytären Aminosäureprofile mit den Plasmawerten (Niereninsuffiziente im Stadium der kompensierten Retention)	22
--	----

4. Vergleich der intraerythrozytären Aminosäureprofile bei Normalpersonen und chronisch Niereninsuffizienten	23
--	----

IV. Änderungen der Plasmaaminogramme unter Therapie	28
---	----

1. Aminosäureabnahme während einer zweistündigen Dialysebehandlung terminal Niereninsuffizienter	28
--	----

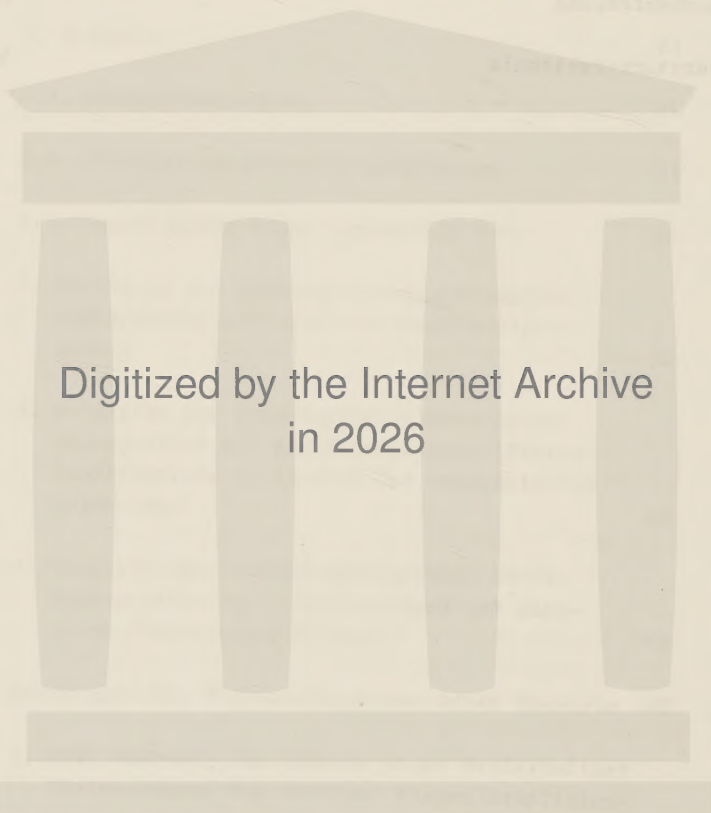
2. Abhängigkeit des Plasmaamino-säureprofils von der Dialyseintensität durch Vergleich zweier Dialysezentren	28
--	----

3. Änderungen der Plasmaamino-säureprofile und spezifischer Quotienten von chronisch Nieren-insuffizienten nach Therapie mit Vitamin B ₆	29
---	----

D. Diskussion	36
---------------	----

E. Zusammenfassung	52
--------------------	----

F. Literaturverzeichnis	54
-------------------------	----



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552312_0038

A. Einleitung

Die chronische Niereninsuffizienz führt zu einer globalen Störung zahlreicher Stoffwechselvorgänge, ihrer hormonalen und enzymatischen Zwischenschritte. Diese sehr allgemeine Aussage beinhaltet die biochemischen Grundlagen der vielfältigen Symptomatologie des Urämiesyndroms. Fast jedes Organ oder Organsystem wird früher oder später von der renalen Insuffizienz betroffen.

Neben den Störungen des Flüssigkeits- und Elektrolytstoffwechsels sind die Störungen des Eiweißstoffwechsels von besonderer klinischer Relevanz. Dies vor allem aus zwei Gründen: Zum einen läßt sich der quantitativ bedeutendste Metabolit des Eiweißstoffwechsels analytisch relativ leicht erfassen und damit als Indikator für das Ausmaß der renalen Insuffizienz verwenden, zum anderen wird zumindest ein Teil der Urämiesymptome auf Störungen des Eiweißstoffwechsels zurückgeführt.

Konsequenterweise richteten sich therapeutische Beeinflussungsversuche darauf, die möglicherweise toxischen Effekte des Eiweißkatabolismus zu mildern und mit minimalen, aber biologisch hochwertigen Proteinmengen optimale Stoffwechseleffekte zu erzielen.

So wurde vor etwa 10 Jahren von Giovanetti et al. (26) die Spaghetti-Ei-Diät, in Deutschland von Kluthe et al. (43) die Kartoffel-Ei-Diät eingeführt.

Die Unterschiede zwischen biologisch hochwertigem und minderwertigem Eiweiß gründet sich auf die Zusammensetzung der Proteine nach ihren Bausteinen, den Aminosäuren.

Aminosäuren müssen nach ihrer biologischen Bedeutung völlig unterschiedlich bewertet werden. Von den 20 regelmäßig in Proteinen vorkommenden Aminosäuren werden die vom menschlichen Organismus nicht synthetisierbaren, daher als essentielle Aminosäuren bezeichneten (Valin, Leucin, Isoleucin, Lysin, Methionin, Threonin, Phenylalanin, Tryptophan), von den synthetisierbaren oder nicht essentiellen unterschieden.

Diese Unterscheidung geht auf das Jahr 1948 zurück, in dem Rose, Österling und Womack (64) durch Ernährungsversuche an Ratten zeigen konnten, daß nur 10 der 19 oder 20 gewöhnlich vorkommenden Aminosäuren für einen maximalen Gewichtszuwachs notwendig

waren.

Dieser Befund wurde bei der Entwicklung diätetischer Maßnahmen in der Behandlung chronisch Niereninsuffizienter zugrunde gelegt, indem der Eiweißgehalt der Nahrung auf essentielle Aminosäuren weitestgehend beschränkt wurde. Experimentelle Befunde (9,25,61,62,63,82) sprechen nämlich dafür, daß Harnstoff kein unveränderliches Stoffwechsel-Endprodukt sei, sondern zu einem gewissen Prozentsatz über hydrolytische Spaltung zu Ammoniak und Aminosäuren wiederverwandelt, "reutilisiert" werden könne. Dieser Vorgang spielt möglicherweise beim Niereninsuffizienten eine quantitativ größere Rolle als beim Gesunden. In jedem Fall ist aber die Reutilisation vor allem ihr Ausmaß an die Zufuhr essentieller Aminosäuren gebunden.

Man erzielt also durch die Auswahl von biologisch hochwertigem Eiweiß einen Doppelleffekt, nämlich geringere Proteinzufuhr und gesteigerte Reutilisation, d.h. die "nitrogen balance" wird positiver.

Um einen Einblick in diesen quantitativ und qualitativ veränderten Eiweißstoffwechsel zu erhalten wären Bilanzstudien am besten geeignet. Diese Bilanzstudien sind aber äußerst aufwendig und einigen wenigen speziell ausgerüsteten Zentren vorbehalten.

Als alternative Methoden zur Untersuchung des bei Niereninsuffizienten gestörten Proteinstoffwechsels bieten sich quantitative Untersuchungen der "Eiweiße" an. Derartige Analysen sind aber viel zu unempfindlich und wenig aussagekräftig, da bei Niereninsuffizienz nur geringe und wenig eindeutige Veränderungen quantitativer Art im Proteinmuster auftreten.

Für spezielle Problemstellungen sind zwar Untersuchungen der Immunglobuline geeignet. Dieses Vorgehen wäre aber eher für immunologische bzw. immunpathologische Fragen von Relevanz, weniger für globale quantitative Betrachtungen.

Neben den aufwendigen Bilanzstudien könnten daher quantitative Analysen der Bausteine der Proteine, der Aminosäuren, wohl am ehesten, wenn auch nur annäherungsweise, Aufschluß über Eiweißstoffwechselstörungen geben.

Jedoch sind diesen Analysen zahlreiche methodische Schwierigkeiten eigen. Die zu untersuchenden Aminosäuren liegen in sehr geringen Konzentrationen vor (nmol-Bereich) und sind von großer chemischer Ähnlichkeit - sie enthalten alle die gleichen funk-

tionellen Gruppen, nämlich eine Amino- und eine endständige Carboxylgruppe.

So ist es nicht verwunderlich, daß es bis Ende des vorigen Jahrhunderts keine quantitativen Angaben über Aminosäuren gab.

Erst um die Jahrhundertwende erschienen 2 wissenschaftliche Arbeiten, eine von Kossel und Kutscher (48), die sich mit der Trennung von basischen Aminosäuren befaßte, und eine von Emil Fischer (17), in der er eine Isolierungsmethode von Monoamino-säuren beschrieb.

Damals waren nur 12 der 19 oder 20 heute als Eiweißbestandteile bekannten Aminosäuren entdeckt.

1901 isolierte Fischer Valin aus seiner Esterfraktion und identifizierte es 1906. (19)

Durch ähnliches Vorgehen entdeckte Fischer Prolin und Hydroxyprolin (18) Hopkins und Cole isolierten Tryptophan (37), P.Ehrlich Isoleucin (15). Um 1907 waren 17 Aminosäuren identifiziert.

Mueller entdeckte Methionin (55), Wada das Citrullin als Bestandteil des Caseins (81).

Seit 1940 sind zwei Methoden entwickelt worden, nämlich die Papier- und Ionenaustauschchromatographie, die die methodischen Probleme der quantitativen und qualitativen Aminosäurebestimmungen lösen halfen.

Da die vorliegende Arbeit sich der Methode des Ionenaustausches durch Kunstharze bedient, soll das Prinzip kurz erläutert werden.

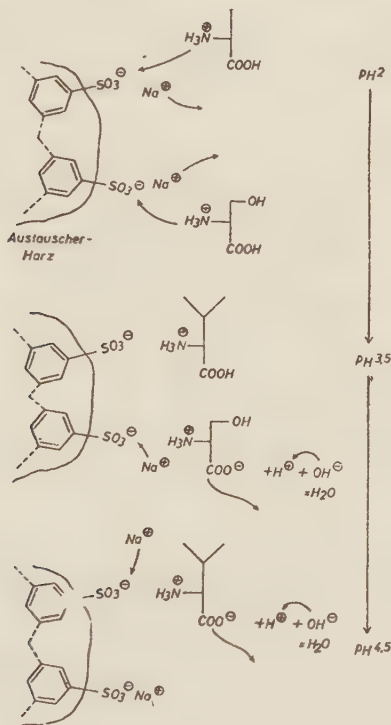
Als Ionenaustauscher dienen Kunstharze, die saure und basische Gruppen tragen. Die Säuregruppen ($-\text{SO}_3\text{H}$ oder $-\text{COOH}$) können je ein Proton abdissoziieren, das aber aus Gründen der Elektroneutralität in der Nähe bleibt. Es kann nur im Austausch gegen ein positives Ion entfernt werden. Dieses Prinzip ist in Ionenaustauscherharzen verwirklicht. Man schichtet ein solches Harz in einem Glasrohr zu einer genau definierten "Säule", läßt die zu untersuchende Lösung eindringen und wäscht mit einer Pufferlösung konstanter H^+ - Konzentration nach. Die Aminosäurekation wird zunächst festgehalten, dann aber gegen Na^+ -Ionen der Pufferlösung ausgetauscht. Der Austauschprozeß wiederholt sich

von Schicht zu Schicht, bis schließlich die Aminosäure in die abtropfende Lösung, das Eluat, gelangt.

Wie stark eine Aminosäure vom Ionenaustauscher festgehalten wird, hängt von ihrem Ionisationszustand, also den Dissoziationskonstanten K der einzelnen Gruppen und vom pH des Elutionsmittels ab.

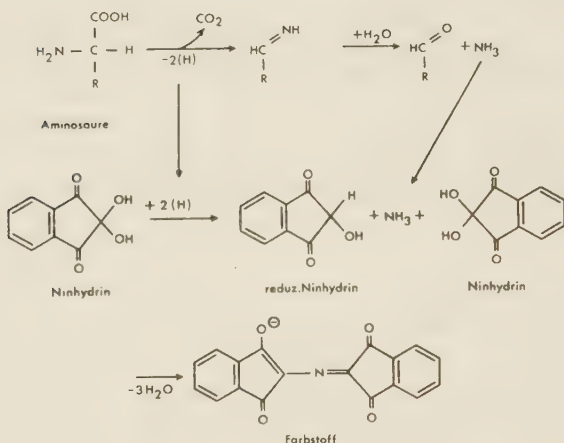
Man nützt also zur Trennung der Aminosäuren die sehr geringen Unterschiede der Dissoziation der Amino- oder Carboxylgruppen, d.h. den unterschiedlichen pK -Wert aus.

Der Chemismus dieses Vorganges kann wie folgt dargestellt werden (nach Karlson)(42):



Die Aminosäuren werden im Eluat mit der Ninhydrinreaktion photometrisch bestimmt. Aminosäuren mit freier Aminogruppe reagieren mit Ninhydrin bei ca. 100°C zu einer blauvioletten Verbindung mit einem Absorptionsmaximum bei 570 nm. Aminosäuren ohne freie Aminogruppe wie Prolin und Hydroxyprolin reagieren zu einer gelben Verbindung mit Absorptionsmaximum bei 440 nm.

Die Reaktion verläuft nach folgendem Schema (nach Karlson)(42):



Zahlreiche Untersuchungsergebnisse der Aminosäureprofile bei Normalpersonen, sowie niereninsuffizienten Patienten sind in den letzten Jahren in der Literatur erschienen. Die mitgeteilten Werte sind aber wohl vorwiegend aus methodischen Gründen sehr different, wodurch ein Vergleich der Ergebnisse erschwert oder unmöglich gemacht wird (vgl. Diskussion).

Schon aus diesem Grund erschien es sinnvoll, Untersuchungen der Aminosäureprofile mit einer präzise überprüften Methodik an einem ausreichend großem Kollektiv von Normalpersonen unter genau definierten Bedingungen durchzuführen.

Nach Erfüllung dieser Voraussetzungen hatten unsere Untersuchungen zum Ziel, sichere statistische Aussagen über Veränderungen der Aminosäureprofile bei chronisch niereninsuffizienten Patienten im Stadium der kompensierten Retention bzw. der Dialyse zu ermöglichen.

Um Parameter für mögliche therapeutische Eingriffe zur Verbesserung der gestörten Eiweißbilanz - mit Einschränkungen ablesbar an Aminosäureprofilen - zu erhalten, wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Aminosäureprofile bei Gesunden im Plasma und in Erythrozyten als einem Annäherungswert für intrazelluläre Konzentrationen.
2. Aminosäureprofile bei chronischer Niereninsuffizienz im Stadium der kompensierten Retention und terminaler Niereninsuffizienz d. h. der Dialyse
3. Spezifische Aminosäurekonstellationen und ihre Beeinflussung durch Therapie mit Pyridoxal (Vit. B₆)
4. Beeinflussung der Aminosäureprofile der Dialysepatienten durch Änderung der Dialyseintensität.

Wegen der nicht einfach zu bestimmenden Aminosäureprofile wurde in der Literatur mehrfach die Bedeutung des Serumtransferrinspiegels als leicht zu bestimmender Parameter zur Beurteilung der Eiweißbilanz hervorgehoben (44,56,59). Dabei blieben aber die Beziehungen zwischen Transferrin und Eisenstoffwechsel unberücksichtigt:

Bei nierengesunden Probanden führt ein Eisenmangel zur Erhöhung des Transferrins und der totalen Eisenbindungskapazität (34). Seit die chronische Hämodialyse weitgehend ohne Bluttransfusion durchgeführt werden kann, wird dieser Eisenmangel zunehmend häufig festgestellt (41,80,39) und führt auch bei Dialysepatienten zu einer meßbaren Erhöhung des Serumtransferrins, wie Jontofsohn et al. (39) feststellen konnte. Im Zuge dieser kurz skizzierten Zusammenhänge können scheinbar normale Konzentrationen nachgewiesen werden, aufgrund derer fälschlicherweise eine optimale Eiweißbilanz angenommen werden könnte.

Durch diese Überlegungen wird klar, daß der Transferrinspiegel im Serum als einzelner Parameter zur Beurteilung der Eiweißbilanz bei chronischer Niereninsuffizienz ungenügend ist. Es erscheint daher sinnvoll zu versuchen, durch Aminosäureanalyse Einblick in den gestörten Proteinstoffwechsel zu gewinnen.

B I. Methodik

1. Probenvorbereitung

Den Probanden bzw. Patienten wurde nach genau 12-stündigem Fasten zwischen 8 und 9 Uhr morgens 10-15ml heparinisiertes Blut aus der Cubitalvene abgenommen. Bei der Abnahme wurde besonders darauf geachtet eine Hämolyse durch mechanische Schädigung zu vermeiden. Bei den Dialysepatienten wurden die Erythrozyten nach Sedimentierung des unmittelbar vor der Dialyse gewonnenen Blutes reinjiziert, um den Blutverlust zu minimalisieren.

Eine Aufbewahrung von Vollblut ist unbedingt zu vermeiden, ebenso eine Lagerung nicht enteweißter Plasmaproben (vgl. Diskussion). Unmittelbar nach Abnahme muß das Heparinblut daher zentrifugiert und enteweißt werden.

Alle physiologischen Proben enthalten Substanzen, die vor der Aminosäurebestimmung durch Säulenchromatographie entfernt werden müssen, da sonst mit ernsthaften Störungen während der Analyse zu rechnen ist. Bei diesen Substanzen handelt es sich vor allem um hochmolekulares Eiweiß, Ammoniak in hoher Konzentration und Glutathion.

Bei den von uns durchgeführten Untersuchungen tritt vor allem Eiweiß als störende Substanz auf, deshalb soll auf die von uns angewandte Methode der Deproteinisierung eingegangen werden.

Zur Enteweißung von Plasma kommen eine Reihe von chemischen und physikalischen Methoden in Betracht, wobei die Ultrazentrifugation und chemische Fällungsmethoden durch Sulfosalicylsäure oder Pikrinsäure am häufigsten angewandt werden.

Von uns wurde die Sulfosalicylsäurefällung angewandt. Das abgenommene Blut wurde sofort nach Entnahme bei 2500-3000x g 20min zentrifugiert, das Plasma abpipettiert und das Volumen gemessen. Danach wurden die Plasmaproben sofort enteweißt.

Pro ml Plasma wurden 50 mg Sulfosalicylsäure in Trockensubstanz zugegeben und nach gutem Durchmischen bei 2500 x g 20 min zentrifugiert. Nach Dekantieren des enteweißten Plasmas und Überführen in einen geeichten Meßzylinder wurde der Niederschlag mit ca. 2ml 0,2 n Na-Citratpuffer mit pH 2,2 versetzt

und gut durchmischt und nach derselben Methode wie die Ausgangsprobe enteiweißt. Der Überstand wurde mit dem 1. Überstand vereinigt. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt und danach das Volumen der vereinigten Überstände bestimmt und der Verdünnungsfaktor festgestellt.

Da alle physiologischen Lösungen thermostabil sind, d.h. durch eine Lagerung bei Raumtemperatur eine starke Abnahme der Aminosäurekonzentration durch Bakterienbefall und Nebenreaktionen auftritt, wurden die Proben bis zur Analyse bei -30°C eingefroren.

2. Durchführung der Analysen

Die säulenchromatischen Bestimmungen erfolgten entsprechend der klassischen Methode nach Spackman, Stein und Moore an zwei verschiedenen Säulen:

Die sauren und basischen Komponenten wurden an einer langen Säule aufgetrennt:

Säulendurchmesser: 0,9 cm

Harzhöhe : 55 cm

Die basischen Komponenten an einer kurzen Säule:

Säulendurchmesser: 0,9 cm

Harzhöhe : 22 cm

Die Harzhöhe ist bei Auffüllen der Säulen exakt einzuhalten, da eine Änderung um 0,5 cm bereits Schwankungen der Retentionszeiten der einzelnen Peaks um mehrere Minuten zur Folge hat.

Verwendet wurden Aminosäure-Analysatoren Unichrom bzw. Multichrom der Fa. Beckman München.

Die Gesamtanalysendauer eines Aminogramms betrug ca. 12 Std. (370 min. für neutrale und saure Aminosäuren, 330 min. für basische Aminosäuren).

Die Elution erfolgte mit Temperaturgradienten von 30-55° C.

Die Analyse der sauren und neutralen Aminosäuren wurde mit zwei pH Gradienten durchgeführt:

1. Elutionspuffer 0,2n Na-Citrat pH 2,97

2. Puffer pH 3,17

3. Puffer pH 4,10

Die Analyse der basischen Aminosäuren mit einem pH Gradienten:

1. Elutionspuffer 0,38n Na-Citrat pH 4,22

2. Puffer pH 5,23

Die genaue Einstellung der pH Werte der Pufferlösungen muß mit einem pH-Meter mit einer Ablesegenauigkeit von 0,01 pH Einheiten erfolgen, da nur geringfügige Änderungen der Wasserstoffionenkonzentrationen die Auftrennung der einzelnen Peaks stark beeinträchtigen und damit die Auswertung erschweren oder ganz unmöglich machen.

3. Auswertung und statistische Methoden

Zur Berechnung der von einem Peak eingeschlossenen Fläche bzw. der diesem Peak entsprechendem Aminosäurekonzentration sind zwei verschiedene Methoden üblich:

1. Die Integrationsmethode mit Hilfe der Höhe x Breite

(H x W Methode)

2. Die Absorptionsmethode

Beide Methoden sind sehr genau. Die H x W Methode ist einfacher und führt rascher zum Ergebnis. Lediglich in Fällen, in denen die einzelnen Peaks zu sehr von der Idealform der Gauss'schen Verteilungskurve abweichen, ist sie nicht mehr anwendbar.

Peaks oder ganze Aminogramme, die nicht nach dieser Methode auswertbar waren (z.B. schlechte Auftrennung), waren auf fehlerhafte Analysen zurückzuführen (z.B. falsche pH Werte, abweichende Elutionszeiten).

Die Berechnung erfolgte in folgender Weise:

Nach Ablesen des Peakmaximums und der Basislinie wird vom Peakmaximum der Wert der Basislinie subtrahiert. Man erhält so die Nettohöhe. Folgen Peaks aufeinander ohne daß die Kurve zur Basislinie zurückkehrt, setzt man einen linearen Anstieg voraus und zieht eine gerade Verbindungslinie zwischen den Basislinien.

Die Nettohälbwertshöhe wird am Peak markiert und die darüberliegenden ausgedruckten Punkte gezählt. Die erhaltene Zahl liefert die Breite (W) des Peaks ausgedrückt in Punktabständen bzw. Zeiteinheiten. Durch Multiplikation der Nettohöhe (H) mit der Breite (W) erhält man die von der Kurve eingeschlossene Fläche (H x W).

Die Berechnung (mg%) erfolgte unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors (VF) und mit Hilfe von Standardextinktionen, die über einen Zeitraum von 1,5 Jahren durch 60 Testanalysen ermittelt wurden (vgl. Diskussion) nach der Formel:

$$\frac{\text{Extinktion(Probe)} \times \text{Verdünnungsfaktor(VF)} \times \text{Molekulargewicht(MG)}}{\text{Extinktion(Standard)} \times \text{Volumen(Probe)} \times 100}$$

= Aminosäure (mg%)

Sämtliche Ergebnisse wurden nach dem Student - t - Test für nicht gepaarte Gruppen statistisch ausgewertet.

Als Signifikanzgrenze gilt $p < 0,05$. Dabei unterscheidet s_d mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % von Null.

G E r g e b n i s s e

I. Plasmaamino-säuren bei Normalpersonen

1. Untersuchungsgut

29 Normalpersonen- Klinikpersonal der II. Medizinischen Universitätsklinik München sowie Bundeswehrrsoldaten der Luftwaffen-sanitätsstaffel Fürstenfeldbruck- davon 15 Frauen und 14 Männer mit einem Durchschnittsalter von 27 Jahren (18-43 Jahre) wurde Blut in der beschriebenen Weise nach 12-stündigem Fasten abgenommen.

2. Ergebnisse und Vergleich mit in der Literatur mitgeteilten Werten.

Die Ergebnisse der Aminosäurenbestimmungen im Plasma von Normalpersonen sind in Tabelle 1 dargestellt.

Eine relativ gute Übereinstimmung zeigte sich mit den von P.F.Gulyassy angegebenen Werten (27). Dieser Autor untersuchte von allen angeführten Arbeitsgruppen das größte Kollektiv (n=15), so daß ein Vergleich mit unseren Ergebnissen am ehesten möglich ist.

Dagegen zeigen andere in der Literatur mitgeteilte Werte z.T. erhebliche Differenzen (1,13,27,29,33,57); dabei spielt die zumeist geringe Anzahl jeweils untersuchter Normalperonen in der statistisch nur sehr bedingten Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit sicher die entscheidende Rolle (vgl. Diskussion).

Die von uns gefundenen Normalwerte wurden für die anschließend an niereninsuffizienten Patienten durchgeführten Untersuchungen als Parameter für Änderungen des Aminosäureprofils verwendet.

Tabelle 1

Aminosäurekonzentrationen(mg%) im Nüchternplasma von Normalpersonen.Eigene Untersuchungen und Werte aus der Literatur

	Eigene Untersuchungen	Gulyassy et al. (25)	Abrahamson et al. (1)	(55)
	(n = 29)	(n = 15)	(n = 13)	(n = 10)
Taurin	0,575	0,61±0,03	1,13	0,79
Threonin	1,329	1,72±0,08	1,27	1,54
Serin	1,014	1,18±0,05	1,71	1,18
Prolin	1,946	1,76±0,012	1,81	2,12
Glutaminsäure	0,599	0,46±0,04	4,33?	0,85
Glycin	1,539	1,70±0,10	2,31	1,78
Alanin	2,600	2,91±0,14	3,51	2,99
Valin	2,135	2,48±0,15	2,21	2,50
Cystin	1,127	0,93±0,10	1,53	1,05
Methionin	0,354	0,33±0,02	0,41	0,34
Isoleucin	0,741	0,75±0,03	0,78	0,83
Leucin	1,396	1,48±0,06	1,63	1,45
Tyrosin	0,830	0,92±0,03	0,87	0,94
Phenylalanin	0,780	0,81±0,02	0,94	0,88
Ornithin	1,027	0,72±0,04	1,29	0,79
Lysin	2,220	2,46±0,08	2,67	2,24
Histidin	1,193	1,23±0,03	1,73	1,15
Arginin	0,918	1,42±0,06	1,61	1,30

II. Plasmaamino-säuren bei chronischer Niereninsuffizienz

1. Patienten im Stadium der kompensierten Retention harnpflichtiger Substanzen

23 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 34 Jahren, davon 14 Frauen und 9 Männern wurde nüchtern Blut abgenommen und nach sofortiger Deproteinierung die Aminosäuren bestimmt.

Die Grundkrankheiten waren:

chronische Glomerulonephritis	13
chronische Pyelonephritis	5
interstitielle Nephritis	1
nicht mehr sicher zuzuordnen	4

Der Mittelwert des Serumkreatinins betrug: 8,2mg% (3,4-18,4)
5 Patienten unterlagen noch keiner diätetischen Restriktion.
18 Patienten erhielten die Kartoffel-Ei-Diät.

Die Ergebnisse der Aminosäureanalysen sind in Tabelle 2 dargestellt.

2. Patienten im Stadium der terminalen Niereninsuffizienz (Dialyse-Patienten)

20 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 41 Jahren, davon 11 Frauen und 9 Männer aus dem Zentrumsdialyseprogramm der Medizinischen Universitätskliniken München wurden nach Nüchternblutabnahme die Aminosäuren bestimmt. Ihnen wurden nach Sedimentieren die Erythrozyten reinjiziert.

Die durchschnittliche Dialysedauer betrug 2,6 Jahre. Sie wurde mit Gerätetypen der Firmen Lundia, Fa. Gambro, Schweden und UF II, Fa. Travenol, München, durchgeführt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind ebenfalls in Tabelle 2 dargestellt.

3. Statistischer Vergleich der Aminosäurenprofile im Plasma von Normalpersonen, chronisch Niereninsuffizienten im Stadium der kompensierten Retention und Dialysepatienten

Die Ergebnisse dieses Vergleichs sind in Tabelle 2 dargestellt.

Die Werte von Threonin, Serin, Alanin, Valin, Isoleucin, Leucin, Tyrosin, Phenylalanin und Lysin waren bei den konservativ behandelten chronisch niereninsuffizienten Patienten signifikant vermindert ($p < 0,05$), während Taurin, Arginin, Glutaminsäure, Methionin und Ornithin nicht sicher signifikant verändert waren. Histidin war in dieser Gruppe mit einer Signifikanz von $0,1 > p > 0,05$ nicht sicher verändert. Cystin war als einzige Aminosäure gegenüber den Normalpersonen signifikant erhöht.

Bei den Dialysepatienten waren alle Aminosäuren gegenüber Normalpersonen signifikant vermindert außer Arginin und Prolin, das mit $0,1 > p > 0,05$ nicht sicher signifikant vermindert war.

4. Vergleich von Plasmaamino säurequotienten von Normalpersonen, konservativ behandelten chronisch Niereninsuffizienten und Dialysepatienten.

Neben quantitativen Veränderungen könnten durch Untersuchungen bestimmter Aminosäurequotienten Einblicke in metabolische Störungen gewonnen werden. Als Vorstufen wichtiger Metaboliten und Hormone bzw. als Vorläufer der Purinsynthese dürften die Beziehungen der Aminosäuren Tyrosin/Phenylalanin bzw. Glycin/Serin von besonderem klinischem Interesse sein (vgl. Diskussion)

4.1. Tyrosin/Phenylalaninquotient

Der Tyrosin/Phenylalaninquotient war bei den chronisch Niereninsuffizienten beider Gruppen gegenüber den Normalpersonen signifikant erniedrigt (Tabelle 3).

4.2. Glycin/Serinquotient

Der Glycin/Serinquotient war bei den Dialysepatienten signifikant, bei den konservativ behandelten Patienten schwach signifikant erhöht (Tabelle 4). Ein Befund, der dem bei Vitamin B₆ Mangel entspricht.

Tabelle 2

Aminosäurekonzentrationen (mg%) im Nüchternplasma; 29 Kontrollpersonen, 27 Niereninsuffiziente, 21 Dialysepatienten; Signifikanz der Unterschiede (P) jeweils gegenüber Normalpersonen (mittlere Reihe)

	Niereninsuffiziente			Normalpersonen			Dialysepatienten		
	x (mg%)	SD	P	x (mg%)	SD	P	x (mg%)	SD	P
Taurin	0,615	0,34	0,25	0,575	0,21	0,0005	0,265	0,18	
Threonin	0,951	0,38	0,0005	1,329	0,26	0,0005	0,487	0,22	
Serin	0,781	0,37	0,0005	1,014	0,19	0,0005	0,405	0,17	
Prolin	1,441	0,55	0,01	1,946	0,56	0,1>p>0,05	1,539	0,74	
Glutaminsäure	0,681	0,33	0,1	0,599	0,19	0,0005	0,849	0,23	
Glycin	1,352	0,52	0,1>p>0,05	1,539	0,48	0,0005	0,977	0,47	
Alanin	1,908	0,57	0,0005	2,600	0,60	0,0005	1,130	0,53	
Valin	1,403	0,73	0,0005	2,135	0,39	0,0005	1,002	0,48	
Cystin	1,932	0,91	0,0005	1,127	0,64	0,0005	2,052		
Methionin	0,319	0,16	0,15	0,354	0,11	0,0005	0,255	0,10	
Isoleucin	0,616	0,26	0,025	0,741	0,15	0,0005	0,425	0,16	
Leucin	0,922	0,41	0,0005	1,396	0,25	0,0005	0,525	0,23	
Tyrosin	0,506	0,23	0,0005	0,830	0,19	0,0005	0,256	0,10	
Phenylalanin	0,557	0,22	0,0005	0,780	0,16	0,0005	0,397	0,14	
Ornithin	1,083	0,53	0,3	1,027	0,38	0,001	0,761	0,37	
Lysin	1,884	0,86	0,1>p>0,05	2,220	0,49	0,0005	1,516	0,78	
Histidin	1,016	0,45	0,3>p>0,05	1,193	0,31	0,0025	0,857	0,41	
Arginin	0,883	0,34	0,3	0,918	0,29	0,45	0,927	0,47	

Tabelle 3

Tyrosin/Phenylalaninquotient im Plasma

	Nieren- insuffiziente	Normalpersonen	Dialysepatienten
$\bar{x}$	0,908	1,068	0,645
SD	0,31	0,17	0,12
	$p < 0,05$	$p < 0,0005$	

Tabelle 4

Glycin/Serinquotient im Plasma

	Nierenin- suffiziente	Normalpersonen	Dialysepatienten
$\bar{x}$	1,775	1,564	2,340
SD	0,59	0,46	0,66
	$0,1 > p > 0,05$	$p < 0,0005$	

Wie die Aminosäureanalysen im Plasma niereninsuffizienter Patienten zeigten, sind eindeutige, signifikante Veränderungen vorhanden. In ihrem Aussagewert sind Plasmaamino-säuren jedoch begrenzt. Von beträchtlicher zusätzlicher Bedeutung wären Kenntnisse der freien intrazellulären Aminosäureprofile, auf Grund ihrer Vorläuferfunktion der Proteinsynthese.

Bergström et al. (8) untersuchten erstmals bei Urämikern Muskelgewebe und fanden signifikante Veränderungen. Valin und Threonin waren signifikant erniedrigt, die anderen Aminosäuren waren entweder normal oder erhöht. Diese Befunde können allerdings nicht ohne weiteres verallgemeinert werden, da sich die Aminosäureprofile von Organ zu Organ stark unterscheiden.

Für Untersuchungen dieser Art wären deshalb zahlreiche, die Patienten stark beeinträchtigende, Biopsien und eine apparativ aufwendige Weiterverarbeitung des gewonnenen Materials notwendig.

Als Ersatz wurden deshalb von uns die intraerythrozytären Aminosäurekonzentrationen bestimmt. Auch diese Befunde sind aber nur mit Einschränkungen als repräsentativ anzusehen, da sich die Erythrozyten bekanntlich in wesentlichen Eigenschaften von anderen Zellen unterscheiden, besonders durch das Fehlen eines Zellkerns.

Dennoch sind - wie zahlreiche biochemische Untersuchungen unter anderen Fragestellungen zeigen - intraerythrozytäre Analysen sinnvoll, weil sie möglicherweise Einblicke in Transportgänge an der Zellmembran und Stoffwechselvorgänge innerhalb der Zellen geben können. Ferner ist die Kenntnis intraerythrozytärer Aminosäurekonzentrationen von praktischer Wichtigkeit, um Störeinflüsse durch Hämolyse abschätzen zu können.

III. Aminosäureprofile in Erythrozyten bei Normalpersonen und chronisch niereninsuffizienten Patienten im Stadium der kompensierten Retention

1. Methodik

1.1. Probenvorbereitung

Von den unter C I angegebenen Normalpersonen wurden 7 Personen mit einem Durchschnittsalter von 28 Jahren, von den unter C II.1. angegebenen Niereninsuffizienten 12 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 40 Jahren unter denselben Bedingungen Blut aus der Cubitalvene entnommen.

Nach Zentrifugieren und Abgießen des Plasmas wurden die Erythrozyten mehrmals mit kalter 0,9 % NaCl-Lösung gewaschen und zentrifugiert. Die anschließende Hämolyse wurde durch Osmose mit einer kalten 0,1n HCl durchgeführt. Die Lösung wurde zentrifugiert (2500-3000 x g 20 min.) und damit Zellreste vom Hämolysat getrennt. Das gewonnene Hämolysat wurde nach der beschriebenen Methode mit Sulfosalzylsäure unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors enteiweißt (vgl. B I.1.) und bis zur Analyse bei -30°C eingefroren. Die Analysen wurden nach der gleichen Methode wie für Plasmaamino-säuren durchgeführt.

1.2. Elimination von störenden Substanzen

Bei der Auswertung der Aminogramme kann der breite Peak für Glutathion - einem Tripeptid, das im Plasma praktisch nicht vorkommt- zu Überlagerungen und Unterschätzungen freier Aminosäuren führen. Um dies zu vermeiden, wurde bei mehreren Proben Glutathion entfernt:

Dazu wurde das Hämolysat durch Zusatz von 1n NaOH auf pH 7,2 -7,5 eingestellt. Danach wurde durch Zugabe von Natriumsulfitlösung (0,2ml 0,5molar) Glutathion in das Glutathion-S-Sulfonat überführt. Nach Stehenlassen von etwa 4 Stunden wird die Lösung durch Zugabe von 1n HCl auf pH 2,0-2,2 gebracht.

1.3. Durchführung einer Kontrollanalyse

Die so behandelten Proben wurden auf die bereits beschriebene Weise säulenchromatographisch analysiert und die erhaltenen Aminogramme als Kontrollen verwendet.

Glutathion-S-Sulfonat tritt mit dem Eigenvolumen der Säule bei etwa 20 ml aus, kann also keine Aminosäure vortäuschen oder überlagern. Durch die Sulfitbehandlung wird aber auch Cystin verändert, nämlich in Cysteinsulfonsäure überführt und tritt ebenfalls mit dem Eigenvolumen der Säule als unspezifischer Peak aus.

Durch Vergleich mit diesen Kontrollanalysen ist eine Verwechslung mit Aminosäuren zu vermeiden und Überlagerungen von Peaks zu erkennen.

2. Vergleich der intraerythrozytären Aminosäureprofile mit Plasmawerten (Normalpersonen)

Tabelle 5 zeigt die Ergebnisse des Vergleichs der freien Aminosäuren im Plasma und in den Erythrozyten von Normalpersonen. Für die meisten Aminosäuren besteht kein oder ein minimaler Unterschied. Diese Befunde stimmen gut mit den in der Literatur angegebenen Werten überein (10,11,50,54,69). Konzentrationen von Serin, Glutaminsäure waren in den Erythrozyten hochsignifikant erhöht. Cystin dagegen war intraerythrozytär kaum meßbar. Arginin war in den Erythrozyten schwach signifikant erniedrigt ($0,1 > p > 0,05$).

3. Vergleich der intraerythrozytären Aminosäureprofile mit den Plasmawerten (Niereninsuffiziente im Stadium der kompensierten Retention)

Tabelle 6 zeigt die beiden Aminosäureprofile.

Die Konzentrationen einer Reihe von Aminosäuren war gegenüber den Konzentrationen bei Normalpersonen etwa in dem Ausmaß vermindert wie dies bei den Plasmaamino-säuren beobachtet wurde, sodaß der Plasma/Erythrozyten-Quotient nicht verändert war.

Änderungen zeigten sich bei Glycin, das in den Erythrozyten niereninsuffizienter Patienten signifikant gegenüber den Plasmawerten erhöht war ($p < 0,0025$). Tyrosin und Phenylalanin waren intraerythrozytär signifikant erhöht. Der Tyrosin/Phenylalaninquotient war intraerythrozytär bei Niereninsuffizienten gegenüber Normalpersonen in dem Ausmaß erniedrigt, wie dies bei den Plasmawerten der Fall war, wenn auch auf etwas höherem Niveau (Tabelle 7).

4. Vergleich der intraerythrozytären Aminosäureprofile bei Normalpersonen und chronisch Niereninsuffizienten

Tabelle 8 zeigt die beiden Aminosäurepattern.

Die Aminosäurekonzentrationen zeigen ein fast identisches Verhalten zu den Plasmaamino-säuren (vgl. Tabelle 2).

Fast alle Aminosäuren zeigen eine mehr oder weniger stark signifikante Abnahme. Ausnahmen bilden nur die Zunahme des Taurins ($p < 0,05$) und die auffallend hohe Zunahme des Glycins und Alanins ($p < 0,0005$ bzw. $p < 0,005$)

Tabelle 5

Aminosäurekonzentrationen im Plasma und Erythrozyten von Normalpersonen (n=7)

Aminosäure(mg%)	Plasma	Erythrozyten	P/E	P
Taurin	0,575	0,485	1,185	NS
Threonin	1,329	1,708	0,778	NS
Serin	1,014	1,973	0,513	p < 0,05
Prolin	1,846	1,695	1,089	NS
Glutaminsäure	0,599	2,001	0,299	p < 0,005
Glycin	1,539	1,307	1,177	NS
Alanin	2,600	2,395	1,085	NS
Valin	2,135	1,876	1,138	NS
Cystin	1,127	0,13	8,669	p < 0,0005
Methionin	0,354	0,309	1,145	NS
Isoleucin	0,741	0,683	1,084	NS
Leucin	1,396	1,198	1,165	NS
Tyrosin	0,830	0,901	0,921	NS
Phenylalanin	0,780	0,849	0,918	NS
Ornithin	1,027	1,210	0,848	NS
Lysin	2,220	2,301	0,964	NS
Histidin	1,193	1,255	0,950	NS
Arginin	0,918	0,653	1,405	0,1 > p > 0,05

Tabelle 6

Aminosäurekonzentrationen im Plasma und Erythrozyten chronisch niereninsuffizienter, konservativ behandelter Patienten (n = 12)

Aminosäure(mg%)	Plasma	Erythrozyten	P/E	P
Taurin	0,615	0,785	1,276	NS
Threonin	0,949	1,372	0,715	NS
Serin	0,835	1,638	0,508	p < 0,025
Prolin	1,441	1,207	1,198	NS
Glutaminsäure	0,681	2,461	3,613	p < 0,0005
Glycin	1,358	5,940	0,228	p < 0,0025
Alanin	2,017	3,165	0,639	p < 0,05
Valin	1,303	1,285	1,072	NS
Cystin	1,932	0,306	6,313	p < 0,0005
Methionin	0,322	0,299	1,076	NS
Isoleucin	0,655	0,548	1,213	NS
Leucin	1,063	1,378	0,770	NS
Tyrosin	0,500	0,769	0,650	p < 0,005
Phenylalanin	0,553	0,835	0,662	p < 0,05
Ornithin	1,086	1,475	0,736	p < 0,05
Lysin	1,840	1,873	0,983	NS
Histidin	1,007	1,035	0,548	NS
Arginin	0,992	0,767	1,293	p < 0,005

Tabelle 7

Tyrosin/Phenylalaninquotient im Plasma und in Erythrozyten
chronisch niereninsuffizienter Patienten und Normalpersonen

Normalpersonen(n = 7)			Niereninsuffiziente(n=12)		
Plasma	Erythrozyten	P/E	P/E	Erythrozyten	Plasma
1,064	1,326	0,802	0,982	0,92	0,904

Tabelle 8

Vergleich der intraerythrozytären Aminosäurekonzentrationen von
Normalpersonen (n = 7) und chronisch Niereninsuffizienten (n = 12)

<u>Aminosäuren</u>	<u>Niereninsuffiziente</u>	P	<u>Normalpersonen</u>
	$\bar{x}$		$\bar{x}$
Taurin	0,785	p<0,05	0,485
Threonin	1,327	p<0,05	1,708
Serin	1,638	0,1>p>0,05	1,937
Prolin	1,207	p<0,05	1,695
Glutaminsäure	2,461	0,1>p>0,05	2,001
Glycin	5,940	p<0,0005	1,307
Alanin	3,165	p<0,005	2,395
Valin	1,285	p<0,005	1,876
Cystin	0,13	p<0,05	0,306
Methionin	0,299	NS	0,309
Isoleucin	0,548	NS	0,683
Leucin	1,378	NS	1,198
Tyrosin	0,769	NS	0,901
Phenylalanin	0,835	NS	0,849
Ornithin	1,475	NS	1,210
Lysin	1,873	p<0,005	2,301
Histidin	1,035	NS	1,255
Arginin	0,765	NS	0,653

Durch die bisherigen Untersuchungsergebnisse konnte gezeigt werden, daß bei chronischer Niereninsuffizienz eindeutige, statistisch signifikante Veränderungen der Aminosäurekonzentrationen auftreten, die zumindest partiell als Ausdruck des gestörten Proteinstoffwechsels dieser Patienten interpretiert werden können, wobei natürlich die bei einem Großteil der konservativ behandelten Niereninsuffizienten durchgeführte eiweißrestriktive Diät ebenfalls im Auge behalten werden muß. Aufgrund dieser Ergebnisse erschien es sinnvoll, auch therapeutische Beeinflussungen des veränderten Eiweißstoffwechsels durch Bestimmungen der Aminosäureprofile vor und nach Therapie zu untersuchen.

Einfluß der Dialyseintensität:

Da bei einem Teil unserer Patienten, nämlich denjenigen im Stadium der terminalen Niereninsuffizienz, die Dialyse als Basistherapie angewendet wird, lag es nahe, die Konzentration von Plasmaamino-säuren unter verschiedenen Dialysebedingungen zu bestimmen und mittels statistischer Methoden zu vergleichen, um möglicherweise Rückschlüsse auf tendenzielle Veränderungen im Proteinstoffwechsel ziehen zu können. Daher untersuchten wir zwei Patientenkollektive aus verschiedenen Dialysezentren (Medizinische Universitätskliniken München und Medizinische Klinik Köln-Merheim), wobei die Dialyse-"Intensität" (Anzahl der Dialysestunden pro Woche) different war.

Effekt der Langzeittherapie mit Pyridoxal:

Ein Aminosäurequotient, nämlich Glycin/Serin, war bei der Niereninsuffizienz erhöht, ein Befund der dem bei Vitamin B⁶-Mangel ähnelt. Da außerdem eine Reihe von klinischen Symptomen bei Vitamin B₆-Mangel und fortgeschrittener Niereninsuffizienz gemeinsam auftreten (vgl. Diskussion), lag es nahe, durch Vitamin B₆-Therapie eine Normalisierung der charakteristisch veränderten Aminosäurequotienten zu versuchen. Daher wurde bei einem Kollektiv chronisch Niereninsuffizienter im Stadium der kompensierten Retention vor und nach einer nach Dosis und Zeit definierten Vitamin B₆-Therapie die Plasmaamino-säurekonzentrationen und der Glycin/Serinquotient berechnet.

Da Vitamin B₆ nicht wie angenommen nur einen Effekt auf die Transaminierung und oxydative Decarboxylierung hat, sondern Hinweise bestehen, daß auch die Nieren - D - Aminosäureoxydase beeinflußt wird, wurde der Tyrosin/ Phenyl-

alaninquotient als möglicher Parameter für diese Wirkung des bei Niereninsuffizienz erniedrigten Pyridoxals (Vitamin B₆) bestimmt (vgl. Diskussion).

IV. Änderungen der Plasmaaminogramme unter Therapie

1. Aminosäure-Abnahme während einer zweistündigen Dialysebehandlung terminal Niereninsuffizienter

Tabelle 9 und Abbildung 1 zeigen die Abnahme an Aminosäuren nach 2-stündiger Hämodialyse an einem Plattendialysator der Fa. Gambro, Schweden.

Die Gesamtabnahme betrug 3,428 mg pro 100 ml Plasma oder 34 % des Ausgangswertes.

Während einer vollständigen Dialysebehandlung ist mit einem Verlust von 6 - 24 g freier Aminosäuren zu rechnen, wie Untersuchungen im Dialysat zeigten (5,47).

2. Abhängigkeit des Plasmaaminosäureprofils von der Dialyseintensität

Das unter II.2. angegebene Kollektiv der Dialysepatienten der Medizinischen Universitätskliniken München wurde mit 10 Patienten aus dem chronischen Dialyseprogramm der Medizinischen Klinik Köln-Merheim verglichen.

Von den 10 Patienten aus der Zentrums-Dialyse Köln-Merheim wurden:

6 Patienten an der Schweden-Zentralanlage

2 Patienten an R S P

2 Patienten an Drake-Willock dialysiert.

Die Dialysedauer betrug in München etwa 12 Stunden pro Woche, in Köln-Merheim etwa 24 Stunden pro Woche.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 10 dargestellt. "Trotz" einer zeitlichen Intensivierung der Dialysebehandlung und dadurch bedingten größeren Verlust an Aminosäuren sind deren Konzentrationen mehr oder weniger stark signifikant erhöht.

Diese Ergebnisse führen zu anderen therapeutischen Konsequenzen als dies von einigen Autoren geschehen ist (49):

Offenbar ist es nicht notwendig, die während der Dialysebehandlung auftretenden Aminosäureverluste zu substituieren.

Vielmehr scheint der durch intensivere Dialysetherapie nachhaltiger optimierte Gesamtzustand des Patienten "trotz" erhöhter Verluste zu besserer Eiweißbilanz infolge erhöhter Kalorien-(und Protein)-Zufuhr zu führen.

3. Änderungen des Plasmaamino-säureprofils chronisch Niereninsuffizienter im Stadium der kompensierten Retention nach Therapie mit Pyridoxal (Vitamin B₆)

Nach unseren eigenen Untersuchungen und Angaben aus der Literatur (83) (vgl. Diskussion) über pathogenetische und diagnostische Bedeutung des Verhältnisses von Glycin/Serinkonzentrationen im Plasma lag es nahe zu untersuchen, ob eine gezielte Therapie mit Vitamin B₆ eine gerichtete Änderung des Plasmaamino-säureprofils bewirkt.

20 Patienten, 11 Frauen und 9 Männer, mit einem Durchschnittsalter von 33 Jahren aus der Gruppe der in II.1. untersuchten niereninsuffizienten Patienten wurden 20 Tage mit Vitamin B₆ (Benadon^R der Fa. Hoffmann - La Roche AG, Basel, Schweiz) - pro Tag 1 Dragee zu 300 mg Vitamin B₆ -hydrochlorid-behandelt. Die Grundkrankheiten waren:

Chronische Glomerulonephritis	12
Chronische Pyelonephritis	5
nicht mehr sicher zuzuordnen	3

Das Serumkreatinin betrug durchschnittlich 5,29 mg% (1,9-11mg%) 18 Patienten erhielten die Kartoffel-Ei-Diät. 2 Patienten unterlagen noch keiner diätetischen Restriktion.

Allen untersuchten Personen wurden vor und nach Vitamin B₆-Behandlung zwischen 8 und 9 Uhr morgens nach 12-stündigem Fasten 10-15 ml heparinisiertes Blut abgenommen. Die abgenommenen Blutproben wurden nach der bereits beschriebenen Methode zur säulenchromatographischen Analyse vorbereitet (vgl. Abschnitt B I₁₋₃).

Weiter wurden nach klinisch-chemischen Routineverfahren Kreatinin, Harnstoff-N, sowie das Gesamteiweiß (Praealbumin, Albumin, alpha₁, alpha₂, beta, gamma) bestimmt.

Alle Ergebnisse wurden nach dem Student - t - Test für gepaarte Gruppen ausgewertet, der naturgemäß eine statistisch bessere Aussage erlaubt, als der statistische Vergleich ungepaarter Gruppen.

Die Signifikanz ist demnach :

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_d} \quad n$$

oder

$$s_d = \frac{(\bar{x}^2) - (\bar{x})^2}{n}$$

$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$ = Durchschnittsdifferenz

$\bar{x}^2$ = Summe der Quadrate der Differenzen

$(\bar{x})^2$ = Summe der Differenzen zum Quadrat

Als Signifikanzgrenze galt $p < 0,05$ = Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% von Null.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 dargestellt. Taurin, Prolin und Glutaminsäure waren signifikant erhöht. Glycin war nicht sicher statistisch erniedrigt ($0,1 > p > 0,05$). Die übrigen Aminosäuren waren nicht signifikant verändert.

Obwohl Glycin nicht sicher signifikant erniedrigt und Serin nicht signifikant verändert war, zeigte der Glycin/Serinquotient auf Grund einer relativ stärkeren Abnahme des Glycin eine signifikante Erniedrigung ($p < 0,005$) nach Vitamin B₆ Behandlung (Tabelle 12).

Der Tyrosin/Phenylalaninquotient war auf Grund einer stärkeren Zunahme des Tyrosin signifikant nach Pyridoxalphosphat-Behandlung erhöht. Beide Aminosäuren zeigten für sich allein keine signifikanten Veränderungen (Tabelle 13).

Das Gesamteiweiß und die Albumine zeigten keine signifikanten Veränderungen (Tabelle 14, 15).

Bei den Globuline trat eine Verschiebung in der Weise auf, daß die beta-Globuline schwach signifikant erhöht ($0,1 > p > 0,05$), die gamma-Globuline hingegen signifikant erniedrigt waren ($0,05 > p > 0,025$) (Tabelle 16).

Tabelle 9

Abnahme der Aminosäurekonzentrationen (mg%) nach 2-stündiger Hämodialyse (n = 3)

Aminosäure	vor Dialyse	nach Dialyse	Differenz
Taurin	0,46	0,35	0,11
Threonin	0,702	0,49	0,21
Serin	0,361	0,21	0,151
Prolin	1,12	0,75	0,37
Glutaminsäure	1,43	1,049	0,381
Glycin	1,36	0,95	0,41
Alanin	0,88	0,59	0,29
Methionin	0,147	0,109	0,038
Isoleucin	0,387	0,134	0,253
Leucin	0,466	0,28	0,186
Tyrosin	0,23	0,135	0,095
Phenylalanin	0,397	0,243	0,154
Ornithin	0,51	0,36	0,15
Lysin	1,34	1,05	0,29
Histidin	0,57	0,51	0,06
Arginin	0,96	0,68	0,28

Gesamtabnahme: 3,428 mg/100ml

Abbildung 1

Abnahme der Aminosäurekonzentrationen nach 2-stündiger Hämodialyse (n = 3)

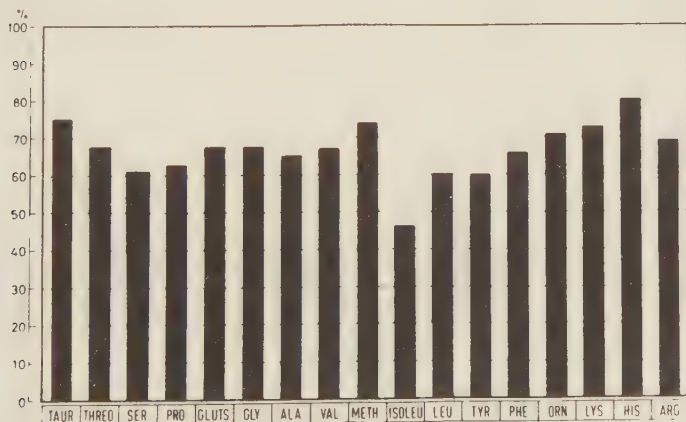


Tabelle 10

Plasmaaminosäureprofile der Patienten aus den Dialyseprogrammen der Klinik I (etwa 12 Stunden Dialyse pro Woche) und der Klinik II (etwa 24 Stunden Dialyse pro Woche)

Aminosäure	Klinik I (n = 21)	p <	Klinik II (n = 10)
Taurin	0,265	0,05	0,398
Threonin	0,487	0,005	0,985
Serin	0,405	0,005	0,875
Prolin	1,538	0,005	2,143
Glutaminsäure	0,849	0,005	1,209
Glycin	0,977	0,005	1,605
Alanin	1,130	0,005	1,853
Valin	1,001	0,005	1,401
Cystin	2,052	0,005	2,954
Methionin	0,196	0,005	0,382
Isoleucin	0,424	0,005	0,727
Leucin	0,524	0,005	0,831
Tyrosin	0,255	0,005	0,391
Phenylalanin	0,396	0,05	0,493
Ornithin	0,761	0,005	0,904
Lysin	1,483	0,005	1,834
Histidin	0,857	0,05	1,138
Arginin	0,927	0,05	1,091

Tabelle 11

Aminosäurekonzentrationen bei chronisch niereninsuffizienten Patienten (n = 20) vor und nach Vitamin B₆ Behandlung

Aminosäure	vor Vitamin B ₆ Behandlung		nach Vitamin B ₆ Behandlung
	$\bar{x}$ (mg%)	P	$\bar{x}$ (mg%)
Taurin	0,39	0,005 > p > 0,0025	0,48
Threonin	1,22	NS	1,20
Serin	0,97	NS	0,92
Prolin	2,51	0,005 > p > 0,0025	2,76
Glutaminsäure	1,25	0,05 > p > 0,0025	1,49
Glycin	2,20	0,1 > p > 0,05	1,93
Alanin	2,54	NS	2,62
Valin	1,50	NS	1,52
Cystin	2,16	0,1 > p > 0,05	2,38
Methionin	0,43	NS	0,46
Isoleucin	0,53	NS	0,60
Leucin	0,96	NS	0,94
Tyrosin	0,51	NS	0,63
Phenylalanin	0,75	NS	0,77
Ornithin	1,34	NS	1,32
Lysin	2,35	NS	2,16
Histidin	1,39	NS	1,53
Arginin	1,51	NS	1,36

Tabelle 12

Glycin/Serinquotient vor und nach Vitamin B₆ Behandlung (n = 20)

Vor Vitamin B ₆		Nach Vitamin B ₆
$\bar{x}$	(Normalpersonen)	$\bar{x}$
2,26	1,52	2,09
$p < 0,0005$		

Tabelle 13

Tyrosin/Phenylalaninquotient vor und nach Vitamin B₆ Behandlung

Vor Vitamin B ₆		Nach Vitamin B ₆
$\bar{x}$	(Normalpersonen)	$\bar{x}$
0,68	1,068	0,82
$0,05 > p > 0,025$		

Tabelle 14

Gesamteiweiß vor und nach Vitamin B₆ Behandlung (n = 20)

<u>vor B₆</u>		<u>nach B₆</u>
7,06 g% ($\pm$ 0,895)	p > 0,15 NS	7,22 g% ($\pm$ 0,921)

Tabelle 15

Albumine vor und nach Vitamin B₆ Behandlung (n = 20) in Rel % des Gesamteiweißes

<u>vor B₆</u>		<u>nach B₆</u>
58,4 ($\pm$ 16,3)	p > 0,25 NS	59,35 ($\pm$ 14,21)

Tabelle 16

Globuline (alpha₁, alpha₂, beta, gamma) vor und nach B₆ Behandlung (n = 20) in Rel % des Gesamteiweißes

<u>vor B₆</u>		<u>nach B₆</u>
alpha ₁ 3,5 ($\pm$ 1,13)	p > 0,25 NS	3,65 ($\pm$ 1,18)
alpha ₂ 9,3 ($\pm$ 4,02)	p > 0,30 NS	8,95 ($\pm$ 3,98)
beta 10,15 ($\pm$ 1,32)	0,1 > p > 0,05	11,15 ($\pm$ 2,03)
gamma 18 ($\pm$ 7)	0,05 > p > 0,025	16,25 ($\pm$ 7,12)

D. Diskussion

Bei Aminosäurebestimmungen, die quantitative Aussagen ermöglichen sollen, wird allgemein die Säulenchromatographie angewandt. Diese sowohl zeitlich als auch apparativ aufwendige Methode ist der einfacheren Dünnschichtchromatographie, einer Modifikation der Papierchromatographie, vorzuziehen da diese nur semiquantitative Aussagen zuläßt, die allerdings zur Erfassung grober qualitativer Störungen, wie z.B. einer Aminoacidurie als angeborener Stoffwechselstörung bei Kindern meist ausreichend genau sind. Die Säulenchromatographie mit Kunstharzen dagegen erlaubt darüberhinaus präzise quantitative Aussagen, wenn neben der subtilen technischen Durchführung mehrere, sowohl die Probanden als auch das Untersuchungsgut betreffende Maßnahmen beachtet werden.

Vor Blutabnahme ist auf eine mindestens 12-stündige Nahrungskarenz zu achten. Knauff et al. (45) konnten zeigen, daß bei Normalpersonen 2 Std. nach oraler Einnahme von 4 g Aletosal = 1 g Protein/kg Körpergewicht fast alle Plasmaamino-säuren signifikant anstiegen, außer Asparaginsäure, Glutaminsäure und Lysin. 1 Std. nach Nahrungsaufnahme waren noch keine signifikanten Anstiege erkennbar. Nach 4 Std. waren die Aminosäurekonzentrationen wieder auf Normalwerte gesunken. Diese Ergebnisse zeigen die Wichtigkeit der strikten Nahrungskarenz vor Blutentnahme, um vergleichbare Werte zu erhalten.

Die Aufbewahrung von Vollblut bzw. nicht enteweißter Plasma-proben ist unbedingt zu vermeiden, da erfahrungsgemäß die Werte für Asparaginsäure und Glutaminsäure zunehmen, während die Werte für Cystin abnehmen. Es ist also nach Blutentnahme eine sofortige Enteiweißung durchzuführen.

Dafür kommen eine Reihe von physikalischen und chemischen Methoden in Betracht, wobei die Ultrazentrifugation, die Sulfo-salizylsäure- und die Pikrinsäurefällung am häufigsten angewandt werden.

Physikalische Verfahren, insbesondere die Ultrazentrifugation, wären am zuverlässigsten, da durch sie die ursprüngliche Zusammensetzung der Probe praktisch nicht verändert werden.

Die Ultrazentrifugation ist aber apparativ und zeitlich sehr aufwendig und deshalb als Routineverfahren wenig geeignet.

Chemische Enteiweißungsmethoden wie die Sulfosalizylsäure- oder Pikrinsäurefällung sind in ihrer Zuverlässigkeit als nahezu gleichwertig zu beurteilen und werden daher bei wissenschaftlichen und praktischen Fragestellungen mit hoher Analysenfrequenz am häufigsten angewandt.

Die Proben müssen sofort nach Deproteinisierung eingefroren werden, um Bakterienbefall oder chemische Nebenreaktionen wie Oxydationsvorgänge zu vermeiden, die eine starke Veränderung der Aminosäurekonzentrationen verursachen.

Da der Aminosäuremetabolismus stark abhängig von der Muskulararbeit und v.a. der Leberfunktion ist, wurden die Blutabnahmen morgens zur gleichen Zeit vorgenommen, um tagesrhythmische Schwankungen der freien Plasmaamino-säuren weitestgehend zu vermeiden.

Geschlechtsspezifische Unterschiede unseres Kollektivs von Normalpersonen (15 Frauen, 14 Männer) konnten nicht festgestellt werden, sodaß wir auch bei der Untersuchung niereninsuffizienter Patienten auf diese Differenzierung verzichteten.

Neben diesen wichtigen im Vorfeld der eigentlichen Versuche gelegenen Bedingungen ist es bei der Empfindlichkeit der Methode der Säulenchromatographie und den geringen Mengen der zu untersuchenden Substanzen - sie sind im nmol Bereich - erforderlich, die Präzision bzw. die Reproduzierbarkeit - ausgedrückt durch den Variationskoeffizienten der bei den Bestimmungen zu erwarten ist, zu bestimmen. Der Variationskoeffizient unserer Bestimmungen, der über einen Zeitraum von 1,5 Jahren an 60 Testanalysen bestimmt war, zeigte mit 1,72% eine Präzision, die vergleichbare klinisch-chemische Methoden erreicht bzw. übertrifft (vgl. Tabelle 17).

Tabelle 17

Reproduzierbarkeit säulenchromatographischer Aminosäurebestimmungen (60 Testanalysen während 1,5 Jahren)

Standardextinktionen		Variationskoeffizient (%)
Asparaginsäure		1,35
Threonin	16,432	1,43
Serin	16,761	1,66
Prolin	4,071	3,36
Glutaminsäure	15,716	1,72
Glycin	16,923	2,02
Alanin	16,735	1,56
Valin	16,805	2,44
Cystin	8,663	3,60
Methionin	17,267	1,41
Isoleuzin	17,950	0,99
Leuzin	17,618	1,20
Tyrosin	17,126	1,01
Phenylalanin	17,132	1,19
Ornithin	16,990	1,63
Lysin	17,54	1,14
Histidin	16,37	1,55
Arginin	17,64	1,72
		$\bar{x} = 1,721 \%$

Für die Bestimmung der intraerythrozytären freien Aminosäuren gelten prinzipiell dieselben Bedingungen, wie sie für die Analyse der freien Plasmaamino-säuren dargestellt worden sind. Als Hämolysemöglichkeiten kommen die Kälte-hämolyse und die Hämolyse durch Osmose in Betracht. Die osmotische Hämolyse durch 0,1 n HCl ist die schnellere und einfachere Methode. In der Wirksamkeit sind beide Methoden gleichwertig.

Um Überlagerungen der Aminogramme der freien intraerythrozytären Aminosäuren durch Glutathion, einem Tripeptid, das im Plasma praktisch nicht vorkommt zu vermeiden, ist es notwendig durch Zugabe von Natriumsulfitlösung Glutathion in Glutathion-S-Sulfonat zu überführen, das mit dem Eigenvolumen der Säule austritt und somit keine Aminosäurepeaks überlagern oder vertauschen kann (vgl. III 1.2.).

Bei Aminosäurebestimmungen, die nicht den bekannten klinischen Fragestellungen dienen z.B. der frühestmöglichen Erkennung extremer Aminoacidurie etwa bei angeborenen Stoffwechseldefekten, sondern Einblicke in globale Störungen des Protein-stoffwechsels ermöglichen sollen, wird allgemein die Konzentration von Plasma- und nicht von Urinamino-säuren bestimmt. Bei der Analyse von im Urin ausgeschiedener Aminosäuren treten nämlich neben den Schwierigkeiten der Methodik (Interferenz anderer z.T. ninhydrinpositiver Substanzen) noch weitere unspezifische Unsicherheitsfaktoren, wie Diurese oder eine im Vergleich zu den Plasmaamino-säuren noch stärkere Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme auf.

Diese durch physiologische bzw. pathophysiologische Vorgänge hervorgerufene Varianz ließe eine derartige Streuung der Ergebnisse erwarten, daß präzise Aussagen unmöglich werden. Prinzipiell wären zur Beurteilung des Protein - Stickstoff - Stoffwechsels allerdings Bilanzstudien am besten geeignet. Diese Untersuchungen sind aber äußerst aufwendig und können nur in speziell ausgerüsteten Zentren durchgeführt werden.

Obwohl also zur Beurteilung für Aminosäurepoolschwankungen die Plasmaamino-säurekonzentrationen nicht streng repräsentativ sind - die größten Aminosäurepools wie Leber und Mus-

kulatur bleiben unberücksichtigt - sind sie wegen der großen methodischen Schwierigkeiten von Bilanzmessungen am ehesten geeignet, quantitative Verschiebungen und damit eventuell qualitative (d.h. metabolische) Störungen zu erfassen.

Auszugsweise zeigt Tabelle 1 die erheblichen Differenzen der in der Literatur mitgeteilten Werte der Aminosäurekonzentration bei Normalpersonen (1,12,25,27,33,57). Diese Werte sind deshalb kaum vergleichbar. Zu geringe Kollektive und nicht genau definierte Analysebedingungen könnten als Teilursachen in Frage kommen.

Wegen dieser methodisch bedingten, großen Differenzen der in der Literatur mitgeteilten Werte und der damit eingeschränkten Vergleichbarkeit der Ergebnisse, wiederholten wir an ausreichend großen Kollektiven von Normalpersonen mit genau definierter Methodik die Untersuchung von Aminosäurekonzentrationen an Normalplasmen. Außerdem erschien erst unter definierten Bedingungen der Diät und Analytik ein Resultatevergleich zwischen Normalpersonen und niereninsuffizienten Patienten möglich. Hinsichtlich der Bestimmung von Aminosäurekonzentrationen im Intrazellularraum finden sich für Normalpersonen in der Literatur kaum Angaben. Aus diesem Grund und weil diese Untersuchungen, wie später ausgeführt werden soll, ein erster wichtiger Schritt für den Konzentrationsvergleich intra- und extrazellulärer freier Aminosäuren sind, bestimmten wir auch an einem ausreichend großem Kollektiv von Normalpersonen die intraerythrozytären Aminosäurekonzentrationen.

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich stimmen die von uns erhobenen Werte für Normalpersonen (n=29) am besten mit den von Gulyassy et al. (27) angegeben überein. Sein Kollektiv war von den bisher in der Literatur mitgeteilten am größten (n=15). Ob die teilweise erheblichen Unterschiede zu den Ergebnissen anderer Autoren neben der Größe des Kollektivs hauptsächlich in methodischen Differenzen liegen, kann wegen ungenügend detaillierter methodischer Angaben in der Literatur nicht beantwortet werden.

Wie in der Einleitung festgestellt, führt die fortgeschrittene Niereninsuffizienz zu einer globalen Stoffwechselstörung, wo-

bei Störungen des Eiweißstoffwechsels einen Großteil der klinischen Symptomatik des Urämiesyndroms bewirken. Konsequenterweise finden deshalb Veränderungen von Plasma-Aminosäurekonzentrationen bei chronischer Niereninsuffizienz, insbesondere seit den Untersuchungen von Gulyassy, Giordano, Bergström und Jontofsohn, seit einigen Jahren zunehmendes Interesse (6,22,28,36). Beim Vergleich der Plasmaamino-säuren von Normalpersonen und terminal Niereninsuffizienten zeigten sich charakteristische Störungsmuster, die bei den Dialysepatienten noch deutlicher ausgeprägt waren als bei den Patienten mit noch kompensierter Retention harnpflichtiger Substanzen (Tabelle 2).

Bei Letzteren fanden wir für die Aminosäuren Taurin, Methionin, Glutaminsäure, Ornithin und Arginin keine signifikanten Veränderungen. Dieser Befund entspricht den von Gulyassy et al. (28) an einem kleineren Kollektiv von chronisch niereninsuffizienten, konservativ behandelten Patienten (n=12) erhobenen Ergebnissen. Dieser Autor stellte aber darüberhinaus im Gegensatz zu unseren Resultaten auch für Alanin und Glycin keine signifikanten Veränderungen fest. Möglicherweise liegt die Ursache in seinem erheblich kleineren Patientenkollektiv (n=12: n=27).

In den eigenen Untersuchungsergebnissen wie in den von Gulyassy mitgeteilten zeigte sich Cystin als einzige der untersuchten 18 Aminosäuren signifikant erhöht, was auf einen "Sulfatstau" bei chronischer Niereninsuffizienz zurückzuführen ist.(28). Ebenfalls übereinstimmend mit Gulyassy wurde eine signifikante Abnahme der essentiellen Aminosäuren Threonin, Lysin, Isoleucin, Leucin, Valin und Phenylalanin gefunden. Histidin, das bei chronischer Niereninsuffizienz als essentielle Aminosäure anzusehen ist (23), war ebenfalls signifikant erniedrigt.

Bei der Gruppe unserer Dialysepatienten waren die Veränderungen der Aminosäurekonzentrationen gegenüber Normalpersonen mit noch deutlicherer Signifikanz ausgeprägt, als bei den Patienten im Stadium der noch kompensierten Retention harnpflichtiger Substanzen. Methionin war bei den Dialysepatienten signifikant erniedrigt, sodaß alle essentiellen Aminosäuren - Tryptophan wurde nicht untersucht - signifikant erniedrigt waren.

Diese ausgeprägten statistisch sicheren Veränderungen der Aminosäuremuster sind ein indirekter Hinweis dafür, daß der Grad der Niereninsuffizienz in Korrelation steht mit dem Ausmaß der Störung des Proteinstoffwechsels. Ob die Dialysetherapie selbst als Teilursache für diese im Vergleich zu konservativ behandelten Patienten ausgeprägteren Veränderungen anzusehen ist oder ob sie möglicherweise eine noch stärkere Verschlechterung verhindert, wurde in einer vergleichenden Untersuchungsreihe zweier Dialysezentren mit unterschiedlicher Dialyseintensität zu klären versucht (s.u.).

Als mögliche Ursachen für den gestörten Aminosäurestoffwechsel kommen mehrere Faktoren in Betracht.

Einmal muß die bei niereninsuffizienten Patienten üblicherweise angewandte proteinarme Diät ein bestehendes Aminosäuredefizit verstärken. Als weitere Ursache kommt der von Joung und Parson (40) erhobene Befund eines verstärkten renalen Aminosäureverlustes durch Einflüsse von Parathormon, diuretisch wirksamen Substanzen im Urämiekerplasma oder Zellwandschädigungen im proximalen Tubulus in Betracht. Die Einflüsse des von Jontofsohn (38) angegebenen primären Proteinmangels bzw. der gestörten Rückresorption aus Dünndarm auf die Aminosäurepattern, mußten in Bilanzuntersuchungen geklärt werden.

Folgende Stoffwechselstörungen könnten ebenfalls die überwiegend erniedrigten Aminosäurekonzentrationen erklären:

Der Glukagonspiegel ist bei chronischer Niereninsuffizienz erhöht, Glukagon fördert die Glukoneogenese aus glukoplastischen Aminosäuren und steigert die Harnstoffsynthese (42). Hennemann (35) konnte ferner zeigen, daß bei der urämischen "Sympathikopathie" der Plasma-Katecholaminspiegel durch Störungen der Noradrenalin Aufnahme an Membranen und durch verzögerte Inaktivierung der Katecholamine in der geschädigten Niere, deutlich erhöht ist. Dies führt zu einer Erhöhung von zyklischem AMP und der Proteinkinase-Aktivität der Leber, des Herzens und der Skelettmuskulatur und damit wie der erhöhte Glukagonspiegel zu einem verstärkten Abbau von Glykogen und einer erhöhten Glukoneogenese aus glukoplastischen Aminosäuren.

Diese in jüngster Zeit diskutierten Faktoren könnten als Teilursachen für den alterierten Aminosäurestoffwechsel, ablesbar an den signifikanten Veränderungen der Aminosäurekonzentrationen bei chronischer Niereninsuffizienz, in Frage kommen.

Neben diesen quantitativen Untersuchungen der Plasmaamino-säurekonzentrationen bestimmten wir, um eventuell Hinweise auf qualitative, metabolisch bedingte, Störungen zu erhalten, Verschiebungen in den Relationen bestimmter Aminosäuren.

Eine wichtige Relation ist dabei der Tyrosin/Phaenylalaninquotient (Tabelle 3), der bei allen Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz signifikant erniedrigt war. Dieser Befund wird durch eine stärkere Verminderung des Tyrosins hervorgerufen. Derartige Konzentrationserniedrigungen von Plasmatyrosin und eine draus resultierende Verminderung des Tyrosin/Phenylalaninquotienten bei Niereninsuffizienz werden auch von Giordano, Gulyassy und mehreren anderen Autoren hervorgehoben (20,21,26,63).

Da es sich bei diesen Aminosäuren um Vorstufen wichtiger Metaboliten und Hormone handelt, ist ihre Bestimmung von besonderem klinischen Interesse. In neueren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß der Tyrosin/Phenylalaninquotient direkt korreliert mit der Quadratwurzel der glomerulären Filtrationsrate und zwar bei Normalpersonen und Urämikern (46). Entsprechend besteht auch zwischen dem Tyrosin/Phenylalaninquotienten und der Serumkreatininkonzentration, als ungefährem Maßstab der Nierenfunktion, eine ähnliche Beziehung. Ursache könnte eine Verminderung der Phenylalaninhydroxylaseaktivität sein, also des Enzyms, das Phenylalanin in Tyrosin umwandelt. Diese Verminderung führt zu einer Erniedrigung des Tyrosinspiegels und damit des Tyrosin/Phenylalaninquotienten (21). Die Phenylalaninhydroxylase ist bei Säugetieren nur in drei Organen bekannt: Niere, Leber und Pankreas (78). Demnach könnte der Tyrosin/Phenylalaninquotient also Ausdruck der eingeschränkten exkretorisch-metabolischen Leistungsfähigkeit der Niere sein.

Eine weitere wichtige Relation stellt der Glycin/Serinquotient dar (Tabelle 4). Er war bei den chronisch niereninsuffizienten

Patienten signifikant erhöht. Dieser Befund könnte von erheblichem klinischen Interesse sein, da diese Konstellation dem bei Vitamin B₆ Mangelzuständen festgestellten Veränderungen ähnelt (30). Pyridoxalphosphat ist als Coenzym im Aminosäurestoffwechsel unentbehrlich. Daneben spielt Pyridoxalphosphat sowohl im Aminosäuretransport, als auch in der Resorption von Aminosäuren eine wichtige Rolle. Bis zu einem gewissen Grad ist durch Steigerung dieser Mechanismen eine Kompensation verminderter Aminosäurezufuhr zu erreichen, wie in Tierversuchen nachgewiesen werden konnte (83).

Nach Dobbelsstein et al. (14) ist bei der chronischen Niereninsuffizienz dagegen mit einem Vitamin B₆ Mangel zu rechnen. Die Ursache für die Veränderung des Glycin/Serinquotienten könnte somit ein erniedrigter Vitamin B₆ Spiegel sein. In einer eigenen Versuchsreihe wurde daher untersucht, ob eine Vitamin B₆ Therapie eine Änderung der Aminosäurekonzentrationen bewirken kann (s.u.).

Plasmaamino-säuren sind trotz ihrer signifikanten Veränderungen bei der Niereninsuffizienz aus prinzipiellen Überlegungen (Organpools, Kompartimentisierung) hinsichtlich des Protein-stoffwechsels von begrenzter Aussagekraft. Wichtiger wären Kenntnisse über die freien intrazellulären Aminosäuren, die eher Einblick in den Pool der Proteinvorläufer erlauben könnten.

Bergström et al. (8) haben erstmals Skelettmuskelbiopsien von Urämikern auf ihre intrazellulären freien Aminosäuren untersucht. Valin und Threonin, zwei essentielle Aminosäuren waren signifikant erniedrigt, die übrigen Aminosäuren waren normal oder geringfügig erhöht. Diese an der Skelettmuskulatur erhobenen Befunde sind aber nicht ohne weiteres auf andere Organe zu übertragen, da z.T. beträchtliche Unterschiede der Aminosäurepattern in den einzelnen Organen bestehen.

Um genaue Vorstellungen über die intra-extrazellulären Aminosäureverteilung zu gewinnen wären also Mehrfachbiopsien aus verschiedenen Organgruppen notwendig. Wichtige Organe zu dieser Problemstellung wie Gehirn, Herzmuskel oder Pankreas scheiden

aus verständlichen Gründen am Menschen aus. Mehrfachbiopsien an Skelettmuskulatur und Leber stellen für die Patienten für Routineuntersuchungen eine unzumutbare Belastung dar und können daher nur in Ausnahmefällen verantwortet werden. Aus diesen Gründen liegt die Untersuchung der Erythrozyten nahe. Sie sind leicht zu gewinnen und mehrfache Untersuchungen ohne größeren Aufwand und Belästigung der Patienten durchführbar. Eine deutliche Einschränkung der Aussagekraft liegt allerdings darin, daß Erythrozyten als kernlose Zellen nur begrenzt die biochemischen Vorgänge der kernhaltigen Körperzellen widerspiegeln. Dennoch sind die Beziehungen zwischen freien Plasma-Aminosäuren und freien intraerythrozytären Aminosäuren untersuchenswert, da am Menschen kaum entsprechende Untersuchungen vorliegen und möglicherweise Rückschlüsse auf gestörte Membrantransporte bzw. Aminosäure-Membrangleichgewichte gezogen werden können, analog den gestörten Gleichgewichten der Elektrolyte, z.B. K, Mg, bei der chronischen Niereninsuffizienz. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen über intraerythrozytäre Aminosäurekonzentrationen bei Normalpersonen (Tabelle 5) stimmen gut mit den in der Literatur angegebenen Werten überein (50, 66, 10, 11, 54).

Glutaminsäure und Serin waren in den Erythrozyten signifikant höher konzentriert als im Plasma. Ein intrazelluläres "Einfangen" (50) der stark sauren Aminosäure Glutaminsäure könnte ein Grund für die hohe intrazelluläre Konzentration sein. Cystin, Methionin und Arginin zeigten ein umgekehrtes Verhalten: Cystin und Methionin enthalten Schwefel. Cystin enthält dazu noch eine freie Sulfhydrylgruppe. Der relative Mangel dieser Aminosäuren in den Erythrozyten könnte die Folge eines geringen Transportes an der Zellmembran auf Grund elektrochemischer Vorgänge bedingt durch den Schwefelanteil sein, besonders wenn eine freie Sulfhydrylgruppe zur Verfügung steht (50). Der Mangel an Methionin ist möglicherweise auf die Eiweißbindung im Hämoglobin zurückzuführen, sodaß die Bestimmung der freien Form

bestimmter Aminosäuren innerhalb der Erythrozyten nur vorge-tauscht niedrige Konzentrationen ergibt.

Die Reduktion von Arginin gegenüber Plasmakonzentrationen ist auf Arginase eines hochaktiven intraerythrozytären Enzyms zurück-zuführen.

In der Literatur finden sich keine Angaben über derartige in-traerythrozytäre Untersuchungen der Aminosäurekonzentrationen bei terminaler Niereninsuffizienz. Als Referenz bzw. Vergleich könnten nur Befunde aus Tierversuchen herangezogen werden. Auf-fallenderweise bestehen aber beträchtliche Unterschiede in den Relationen der freien Plasmaamino-säuren zu den freien intra-erythrozytären Aminosäuren zwischen den untersuchten Säugetier-arten (10,11,50,54,66). Es bestehen also artspezifische Unter-schiede, die die Übertragung von an Versuchstieren gewonnenen Ergebnissen auf den Menschen erschweren oder unmöglich machen. Unsere Befunde können also nicht im Zusammenhang mit den Er-gebnissen anderer Autoren diskutiert werden.

Bei den chronisch niereninsuffizienten Patienten zeigten sich bis auf 4 Aminosäuren - Glycin, Alanin, Tyrosin, Phenylalanin - dieselben Plasma/Erythrozytenrelationen wie bei gesunden Nor-malpersonen. Worauf die auch Normalpersonen gegenüber starke Zunahme von Glycin und Alanin zurückzuführen ist, kann ohne weitergehende Untersuchungen nicht entschieden werden (Tabel-le 6,8).

Tyrosin und Phenylalanin waren in den Erythrozyten gegenüber Normalpersonen weniger stark erniedrigt als im Plasma, sodaß im Endeffekt eine signifikante Erhöhung der beiden Aminosäu-ren intraerythrozytär bei den chronisch niereninsuffizienten Patienten im Stadium der noch kompensierten Retention harn-pflichtiger Substanzen resultierte.

Das fast identische Verhalten der intraerythrozytären Amino-säurekonzentrationen und Plasmaamino-säurekonzentrationen mit Ausnahme der essentiellen Aminosäure Leucin, die zwar nicht sig-nifikant, aber doch ansteigt, sowie der Glutaminsäure, des Gly-cins und Alanin, die signifikant bei Niereninsuffizienten er-höhrt waren, könnte ein Hinweis darauf sein, daß bei der chro-nischen Niereninsuffizienz auch die intrazellulären Aminosäure-

konzentrationen verändert sind. Dieser Befund könnte hinsichtlich des Proteinstoffwechsels eine noch größere Bedeutung haben, als die Veränderungen der Plasmaamino-säuren. Zur Abklärung der Ausnahmen und ihrer Bedeutung bedarf es weiterer, eingehender Untersuchungen.

Therapeutische Maßnahmen zur Milderung oder Beseitigung der Katabolen Eiweißeffekte, auf die man heute einen Großteil der Symptomatik des Urämiesyndroms zurückführt, beschränkten sich lange Zeit auf diätetische Maßnahmen (vgl. Einleitung), die auch heute noch die Basistherapie für die gestörte "nitrogen balance" darstellen.

Da aber eine Reihe von klinischen Symptomen - Krämpfe, periphere Neuropathie, normochrome Anämie, Unterdrückung des Immunsystems, Änderungen von Aminosäurekonzentration in ganz ähnlicher Art, z.B. Erhöhung des Glycin/serin-Quotienten - bei Vitamin B₆ Mangel und fortgeschrittener Niereninsuffizienz vorkommen (14,89), lag es nahe, in einer Versuchsreihe die Auswirkungen einer definierten Vitamin B₆ Therapie an den Aminosäurekonzentrationen chronisch niereninsuffizienter Patienten zu untersuchen (Tabelle 11,12,13,14,15,16).

Vitamin B₆ nimmt als Coenzym am Metabolismus und der Synthese aller natürlich vorkommender Aminosäuren teil (71,72) und dürfte deshalb besonders gut zur therapeutischen Substitution geeignet sein, um Aminosäurekonzentrationen, die mit Einschränkungen als Ausdruck eines gestörten Eiweißstoffwechsels anzusehen sind, zu verändern. Die von uns beobachtete signifikante Zunahme von Taurin, Prolin und Glutaminsäure nach 20-tägiger Vitamin B₆ Therapie (pro Tag 1 Dragee zu 300 mg Vitamin B₆-hydrochlorid) dürfte auf eine verbesserte intestinale Absorption zurückzuführen sein (2,20,53,58,67,73,83).

Glycin war als Aminosäure nur schwach signifikant erniedrigt. Der zuvor pathologisch erhöhte Glycin/Serin-Quotient jedoch, der ein Hinweis für den aktuellen, bei Niereninsuffizienz verminderten, Vitamin B₆ Spiegel sein könnte (s.o.)(89), war nach Therapie signifikant niedriger geworden, was auf eine stärkere Abnahme der Glycin-Konzentration zurückzuführen ist. Eine mögliche Erklärung für diesen Effekt könnte in der Tatsache liegen, daß Glycin und Serin wichtige Vorläufer der Purinsynthese sind und somit Pyridoxalphosphat durch direktes Einwirken und durch

eine verbesserte intestinale Absorption von Vitamin B₁₂ eine Aktivierung dieser Synthese und damit eine Abnahme des Glycin/Serin-Quotienten bewirkt haben könnte (60,77,79). Dieser Befund bedeutet also eine echte Verbesserung der Utilisation von Glycin und Serin unter Vitamin B₆ Therapie.

Die Therapie mit Pyridoxalphosphat hatte auf Tyrosin und Phenylalanin in ihren Einzelkonzentrationen keinen signifikanten Einfluß. Der Tyrosin/Phenylalaninquotient war jedoch durch eine relativ stärkere Erhöhung von Tyrosin signifikant erhöht.

In der Literatur wurde überwiegend angenommen, Pyridoxalphosphat ist als Cofaktor nur bei einem Teil der verschiedenen Reaktionswege der Aminosäure im Organismus beteiligt. Von diesen Reaktionswegen sind die Decarboxylierung, die zur Stoffklasse der biogene Amine führt, und die Transaminierung für den Stoffwechsel der Aminosäuren und des Stickstoffs die wichtigsten. In neueren Untersuchungen konnte jedoch gezeigt werden, daß Pyridoxalphosphat auch bei der oxydativen Desaminierung, einem weiteren wichtigen Reaktionsweg der Aminosäuren beteiligt ist. Armstrong (4) fand die Nieren - D- Aminosäureoxydase bei Ratten mit Vitamin B₆ Mangel stark erniedrigt. Dieser Befund korreliert mit den von Giordano (22) und von Kopple (46) bei der Urämie erhobenen Befunden. Vitamin B₆ könnte also die exkretorisch-metabolische Leistungsfähigkeit der Niere günstig beeinflussen, ablesbar am signifikanten Ansteigen des Tyrosin/Phenylalaninquotienten (s.o.).

Neben den Aminosäuren wurden Gesamteiweiß, sowie die Albumin- und Globulinfraktion bestimmt.

Das Gesamteiweiß und die Albuminfraktion waren nach Vitamin B₆ nicht signifikant verändert. Innerhalb der Globulinfraktion waren die beta-Globuline schwach signifikant erhöht, die gamma-Globuline signifikant erniedrigt.

Um Schlußfolgerungen hinsichtlich des Immunsystems wie sie von Döbelstein et al. (14) bei Niereninsuffizienz und Vitamin B₆ gezogen wurden, zu beurteilen, reichen unsere Ergebnisse nicht aus.

Neben diätetischen und medikamentösen Maßnahmen werden die Aminogramme am nachhaltigsten von der Hämodialyse beeinflusst. Wie Tabelle 9 und Abbildung 1 zeigen, ist die Abnahme an Aminosäuren nach 2 Stunden Dialyse an einem Plattendialysator der Fa. Gambro, Schweden, mit 3,428 mg/100ml oder 34 % des Ausgangswertes beachtlich. Während einer vollständigen Dialysebehandlung ist mit einem Verlust von 6 - 24 g freier Aminosäuren zu rechnen (5,47). Diese Verluste würden zunächst erwarten lassen, daß eine Steigerung der Dialyseintensität die Aminosäurebilanzen weiter negativ beeinflusst. Ein Vergleich von Patienten aus den Dialyseprogrammen zweier großer Dialysezentren zeigt jedoch in eindeutig signifikanter Weise, daß durch eine zeitlich intensivere Dialyse, wie in einem Zentrum praktiziert, alle Aminosäurekonzentrationen im Plasma nicht, wie erwartet werden könnten, erniedrigt, sondern sogar signifikant erhöht gefunden wurden (Tabelle 10). In welchem Umfang unterschiedliche Dialysatoren, v.a. Membranen mit unterschiedlichen Porendurchmessern eine Rolle spielen, wurde nicht untersucht.

Unserer Meinung nach wird der bei jeder Dialyse auftretende Aminosäureverlust in seiner quantitativen Bedeutung für die Aminosäurebilanz weit überschätzt. So konnte Kopple et al. (47) an 2 Aminosäuren, Tyrosin und Phenylalanin, zeigen, daß der in seinem absoluten Wert beachtliche Verlust gegenüber der in der Nahrung aufgenommenen Menge relativ gering war, nämlich etwa 3000 mg zu maximal 400 mg Aminosäure in freier und gebundener Form im Dialysat. Trotz dieses erheblichen Unterschiedes waren die Plasmakonzentrationen dieser Aminosäuren niedrig. Für wesentlich wichtiger halten wir daher die Überlegung, daß metabolische Störungen, die z.T. an charakteristisch veränderten Aminosäuremustern ablesbar sind, eine dominierende Rolle in der Veränderung der Aminosäurekonzentrationen spielen. Derartige metabolische Störungen sind im vorangegangenen Diskussionsteil besprochen worden; darüberhinaus ist aber mit einer durch das komplexe Geschehen der Urämie hervorgerufenen vielfältigen Beeinflussung enzymatischer und/oder hormonal gesteigerter Stoffwechselschritte zu rechnen. Diese sollten sich durch eine optimierte Dialysetherapie günstig beeinflussen lassen, sodaß die durch intensivere Dialysetherapie "technisch bedingte" Steigerung der Aminosäureverluste in die Dialyseflüssigkeit bei weitem durch

den positiven Effekt auf die urämischen Stoffwechselentgleisungen überlagert wird. Das heißt, die unspezifische Substitution von Aminosäuren während und nach der Dialyse scheint unbefriedigender Ausdruck einer allzu vereinfacht gesehenen quantitativen Betrachtung zu sein; Ziel sollte vielmehr eine optimierte Dialysetherapie und eine gezielte Aminosäuresubstitution sein, von letzterer ist man z.Zt. sicher noch weit entfernt, da von Organ zu Organ erhebliche Unterschiede in den Aminosäurekonzentrationen bestehen, wie aus tierexperimentellen Untersuchungen hervorgeht. Beim Menschen liegen aus verständlichen Gründen Ergebnisse von wichtigen Organgruppen nur spärlich oder gar nicht vor.

Erste Ansätze zu einer gezielten Substitutionstherapie stellen Versuche mit der Zufuhr essentieller Aminosäuregemische dar. Ahlberg et al.(3) konnten in Stickstoffbilanzuntersuchungen bei Patienten mit fortgeschrittener chronischer Niereninsuffizienz nachweisen, daß nach proteinarmer Diät bei zusätzlicher parenteraler oder oraler Zufuhr von essentiellen Aminosäuren mit Histidin eine positive Stickstoffbilanz zu erreichen ist. Untersuchungen mit ¹⁵N-markierten Harnstoff zeigten, daß dies Ausdruck einer echten Proteinsynthese ist. Diese Therapie kommt v.a. für 3 Gruppen von Patienten mit schwerer Urämie in Betracht:

1. Für Patienten, die eine Nierentransplantation erwarten
2. Für Patienten, die auf einen Dialyseplatz warten und
3. Für Patienten, die auf Grund anderer chronischer Krankheiten oder wegen hohen Alters weder transplantiert noch dialysiert werden können.

Neben diesen Untersuchungen mit essentiellen Aminosäuregemischen und Histidin wurde von Walser (82) mit einem Gemisch von alpha-Ketoanalogen von 5 essentiellen Aminosäuren (Valin, Leucin, Iso-leucin, Methionin, Phenylalanin) und den restlichen 4 Aminosäuren (L-Threonin, L-Lysin-HCl, L-Histidin, L-Tryptophan) Verbesserungen der Stickstoffbilanz, sowie eine Abnahme der Harnstoffwerte nachgewiesen. Diese Effekte der Ketoanaloge könnten auf folgenden Ursachen beruhen: 1. Umwandlung der Ketoanaloge in die Aminosäuren könnte die sonst erforderliche Menge Stickstoff direkt vermindern oder 2. Ketoanaloge stimulieren körpereigene Mechanismen der Stickstofferhaltung. Die überaus optimistische Meinung, Langzeit-Substitution mit Ketosäuren könnten die Dialyse

ersetzen oder die Notwendigkeit dazu verhindern ist zum jetzigen Zeitpunkt bei den spärlich vorliegenden Ergebnissen schwerlich zu teilen.

Nach unseren Ergebnissen dürfte eine optimierte Dialysetherapie mit den therapeutischen Begleitmaßnahmen wie Diät und ausreichender Vitamin B₆ Zufuhr die beste Möglichkeit sein die katabolen Eiweißeffekte der terminalen Niereninsuffizienz abzumildern und die Patienten in einen ausreichenden Ernährungszustand zu versetzen, was für die anzustrebende Nierentransplantation aus chirurgischer Sicht besonders wichtig ist.

Zusammenfassung

1. An 29 gesunden Kontrollpersonen (Klinikpersonal und Bundeswehrsoldaten) und 43 chronisch niereninsuffizienten Patienten (23 konservativ behandelte und 20 Dialysepatienten) wurden die Aminosäurekonzentrationen im Nüchternplasma bestimmt. Mit einem Variationskoeffizienten von 1,72 % - ermittelt an 60 Testanalysen während 1,5 Jahren - zeigte die säulenchromatographische Analyse eine hohe Präzision. Die Aminogramme zeigten bei den konservativ behandelten und noch ausgeprägter bei den Dialysepatienten, signifikante Unterschiede mit deutlicher Erniedrigung der essentiellen Aminosäuren gegenüber der Kontrollgruppe.
2. Verschiebungen einzelner Aminosäurerelationen (Tyrosin/Phenylalanin und Glycin/Serin) wiesen auf metabolische Störungen hin.
3. An 7 gesunden Kontrollpersonen und 12 niereninsuffizienten Patienten im Stadium der kompensierten Retention wurden die intraerythrozytären freien Aminosäuren bestimmt. Die intrazellulären Aminosäurekonzentrationen der niereninsuffizienten Patienten zeigten ein ähnliches Verhalten zu den Konzentrationen der Kontrollgruppe wie die Plasmaamino-säuren, mit Ausnahme des Leucins, der Glutaminsäure, des Glycins und des Alanins, die bei niereninsuffizienten Patienten erhöht waren.
4. An 20 niereninsuffizienten Patienten im Stadium der kompensierten Retention wurden nach 20-tägiger Vitamin B₆ Zufuhr (pro Tag 1 Dragee zu 300 mg Vitamin B₆-hydrochlorid) die freien Plasmaamino-säuren bestimmt. Taurin, Prolin, Glutaminsäure und Glycin waren signifikant erhöht. Der Glycin/Serin-Quotient der ein Hinweis für den aktuellen Vitamin B₆ Spiegel sein könnte, war signifikant erniedrigt. Der Tyrosin/Phenylalanin-Quotient als möglicher Hinweis für die exkretorische Leistungsfähigkeit der Niere war signifikant erhöht. Innerhalb der Globulinfraction waren die beta-Globuline erhöht, die gamma-Globuline erniedrigt.
5. Ein Vergleich der Plasmaaminogramme von Dialysepatienten zweier Medizinischer Universitätskliniken (Klinik I: n=21, Klinik II: n=10), die sich bei sonst vergleichbaren Bedingungen (Patientenkollektiv, Dialysetechnik) wesentlich nur in der zeitlichen Intensität unterschieden, zeigten eine signifikante Erhöhung

aller Aminosäuren der Patientengruppe, die zeitlich intensiver dialysiert wurden.

Unsere Ergebnisse lassen vermuten, daß eine optimierte Dialysetherapie, Vitawin B₆ Zufuhr und Diät eher geeignet sind, Störungen der Aminosäurekonzentrationen zu verbessern, als eine unkritische und unspezifische Substitution mit Aminosäuregemischen.

F. Literaturverzeichnis

1. Abrahamsen L., Hakelius L., Hjorth G., Phlin S.E., :
Parenteral nutrition with a solution of pure L-amino-acids
Acta. chir. Scand. 138, 645-654, 1972
2. Akedo H., Christensen H.N., :
Transfer of Amino-acids across the the intestine : a new
Model Amino-acid
J. Biol. Chem. 237, 113-122, 1962
3. Ahlberg M., Bergström J., Josephson B., Noree L.O., Vinnars E.,
Experience with essential amino acids in the treatment of
patients with chronic uremia
Infusionstherapie 2, 151-157, 1975
4. Armstrong K.L., Feldott G., Lardy H.A., :
Relationship of Vitamin B₆ to the metabolism of D-amino-
acids
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 73, 159-163 , 1950
5. Aviram A., Peters J.H., Gulyassy P.F., :
Dialysance of aminoacids and related substances
Nephron 8, 440, 1971
6. Bergström J., Fürst P., Josephson B., Noree L.O., :
Improvement of nitrogen balance in a patient by the addition
of histidine to essential amino acid solution given intra-
venously.
Life Sci. 9, 787, 1970
7. Bergström J., Fürst P., Josephson B., Noree L.O., :
Factors affecting the nitrogen balance in chronic uremic
patients receiving essential amino acids intravenously or
by mouth
Nutr. Metabol. 14, 162, 1972

8. Bergström J., Fürst P., Josephson B., Noree L.O., :
The effect of peritoneal dialysis on intracellular free
amino acids in muscle from uremic patients
Proc. EDTA 9, 393, 1972
9. Bergström J., Fürst P., Noree L.O., :
Treatment of chronic uremic patients with protein-poor diet
and oral supply of essential amino acids
Clinical nephrology 3, 5, 1975
10. Björnesjö K.B., :
The erythrocyte/plasma distribution of amino acids in health
and disease
Clin. Chim. Acta 20, 17-22, 1968
11. Björnesjö K.B., Jagenburg R., Mellander O., :
Amino acid patterns in plasma and erythrocytes in protein
malnutrition
Acta paediat. Scand. 58, 245, 1969
12. Braunitzer G., :
Vollautomatische Aminosäuretrennung
Angew. Chemie 72, 485, 1960
13. Dickinson J.C., Rosenblum H., Hamilton P.B., :
Ion exchange chromatography of free amino acids in the plasma
of the newborn infant
Pediatrics 36, 2, 1965
14. Döbelstein H., Körner W.F., Mempel W., Grosse-Wilde H.,
Edel H.H., :
Vitamin B₆ - deficiency in uremia and its implications for
the depression of immune responses
Kidney International 5, 233-239, 1974
15. Ehrlich P., :
Über das natürliche Isomere des Leucins
Ber. deutsch. chem. Ges. 40, 2538, 1907

16. Elwyn D.H., :
Distribution of amino acids between plasma and red blood
cells in the dog
Fed. Proc. 25, 854, 1966
17. Fischer E., :
Über die Hydrolyse des Caseins durch Salzsäure
Hoppe Seylers Ztschr. 33, 151, 1901
18. Fischer E., :
Über eine neue Aminosäure aus Leim
Ber. deutsch. chem. Ges. 35, 2660, 1902
19. Fischer E., :
Spaltung der alpha-Amino-Valeriansäure in die optisch acti-
ven Componenten
Ber. deutsch. chem. Ges. 40, 2538, 1906
20. Gent A.E., Creamer B., :
Aminoacid Homeostasis in the Small Intestine
Digestion 7, 13-23, 1972
21. Giordano C., Esposito R., de Pascale C., de Santo N.G., :
Dietary Treatment in Renal Failure
Proc. III. Int. Congress Neph. 3, 214-229, 1966
22. Giordano C., de Pascale C., de Santo N.G., Esposito R.,
Cirillo D., Stangherlin P., :
Disorder in the metabolism of some amino acids in uremia
Proc. IV. Int. Congress Neph. 2, 196-202, 1969
23. Giordano C., de Pascale C., de Christofero D., Capodicasa G.,
Bastriesi C., Baczyk K., :
Protein malnutrition in the treatment of chronic uremia
In : Nutrition in renal disease (ed.: Berlyne G.M.)
E + S Livingstone LTD. Edinburgh and London 1968

24. Giordano C., de Santo N.G., Rinaldi S., de Pascale C.,
Pluvio M., :
Histidine and glycine essential amino acids in uremia
In : Uremia (eds.: Kluthe R., Berlyne G., Burton B.)
S. 138 Georg Thieme Verlag Stuttgart 1972
25. Giordano C., :
Use of exogenous and endogenous urea for protein synthesis
in normal and uremic subjects
J. Lab. clin. Med. 63, 231, 1963
26. Giovanetti S., Maggiore Q., :
A low-nitrogen diet with proteins in high biological value
for severe chronic uremia
Lancet 1, 1000, 1964
27. Gulyassy P.F., Peters J.H., :
Hemodialysis and plasma amino acid composition in chronic
renal failure
The Americ. Journ. of Nutr. 21, 565-573, 1968
28. Gulyassy P.F., Aviram A., Peters J.H., Lin S.C., Ryan P.M., :
Evaluation of amino acid and protein requirements in chro-
nic uremia
Arch. intern. Med. 126, 855-859, 1970
29. Gulyassy P.F., Peters J.H., Schoenfeld P., :
Transport and metabolism of tryptophan in uremia
In : Uremia (eds.: Kluthe R., Berlyne G., Burton B.)
S. 163 Georg Thieme Verlag Stuttgart 1972
30. Hamfelt A., :
Pyridoxine metabolism in the human being at different ages
In : B-Vitamine (eds.: Kress H., Blum K.G.,) S.305
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart 1966

31. Hope D.B., :
L-Cystathione in the urine of pyridoxine-deficient rats
Biochem. J. 66, 206-208, 1957

32. Hawkins W.W., Leonhard V.G., Coles C.M., :
The excretion of nitrogen by the rats in vitamine B₆-deficiency
J. Nutr. 69, 383-386, 1959

33. Holt L.E., Snydermann S.E., Norton P.M., Finch J., :
The plasma aminogramm in kwashiorkor
Lancet 7322, 1343-1348, 1963

34. Hausmann K., Kruse R., Meinecke K.H., Bartels H., Heinrich H.,
Diagnostische Kriterien prälatenten, latenten, und manifesten
Eisenmangels
Klin. Wschr. 49, 1164, 1971

35. Hennemann H.M., :
Die urämische Sympathicopathie
Habilitationsschrift Würzburg 1974

36. Hörl W., Heilmeyer L., Hennemann H.M., :
Glykogenstoffwechsel bei chronisch experimenteller Urämie
Symposion : Aktuelle Probleme der Hochdruck und Nieren-
krankheiten Würzburg 18. 4. 1975

37. Hopkins F.G., Cole S.W., :
A contribution to the chemistry of proteids
J. Physiol. 27, 418, 1901-1902

38. Jontofsohn R., Vatz N., Stuber H., Kluthe R., :
Einfluß von L-Histidin und Eisen auf die Anämie bei chron-
ischer Niereninsuffizienz
Nieren - und Hochdruckkr. 3, 27, 1974

39. Jontofsohn R., Lunckers K., Müller H., Heinze V., Kluthe R.,
Serumtransferrin, Eiweißernahrung und Eisenstoffwechsel bei
chronisch hämodialysierten Patienten
Klin. Wschr. 52, 398-399, 1974

40. Joung G., Parson F.M., :
Plasma proteids and amino acids in chronic renal failure
and the effect of intravenous essential amino acid therapy
Proc. EDTA 10, 30, 1973
41. Junkers K., Jontofsohn R., Klein G., Heinze V., :
Parenterale Eisensubstitution zur Behandlung der Anämie bei
chronisch dialysierten Patienten
Med. Welt 24, 1042, 1973
42. Karlson P., :
Kurzes Lehrbuch der Biochemie
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1967
43. Kluthe R., Quirin H., :
Experimentelle Untersuchungen zur eiweißarmen Diät bei
chronischen Nierenerkrankungen
In : Aktuelle Probleme der klinischen Nephrologie
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1966
44. Kluthe R., Baumann G., Bischoff G., Quirin H., :
Serumtransferrin und Eiweißernährung bei chronisch inter-
mittierender Hämodialyse
Med. u. Ernähr. 12, 73, 1971
45. Knauff H.G., Seybold D., Kauters A., :
Frei Plasmaamino-säuren und Blutammoniak nach oraler Protein-
zufuhr
Klin. Wschr. 43, 382-390, 1965
46. Kopple J.D., Wang M., Vymeister J., Baker N., Swenseid M.E., :
Tyrosine metabolism in uremia
In : Uremia (eds.: Kluthe R., Berlyne G., Burton B.)
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1972
47. Kopple J.D., Swendseid M.E., Shinaberger J.H., Umezawa C.J. :
The free and bound amino acid removed by hemodialysis
Tans. Amer. Soc. artif. intern. Org. 19, 309, 1973

48. Kossel A., Kutscher F., :
Beiträge zur Kenntnis der Eiweißkörper
Hoppe-Seylers Ztschr. 31, 165, 1900-1901
49. Kult J., Fink M., von Frank P., Heidland A., :
Bedeutung der Aminosäuresubstitution für den Proteinstoff-
wechsel regelmäßig dialysierter Patienten
Infusionstherapie 2, 124, 1973/74
50. Levy H.L., Barkin E., :
Comparison of amino acid concentrations between plasma and
erythrocytes. Studies in normal subjects and those with
metabolic disorders
J. Lab. Clin. Med. 4, 517-523, 1971
51. Love J.N., Wiygul G., :
Free amino acids in the plasma and red cells of the ox Bo-
staurus
Comp. Biochem. Physiol. 28, 1473-1480, 1969
52. Malun A., Naznik T.S., Mohsen B., Hedayad H., Donoso G., :
Effect of fasting and of protein free diet on amino acid
ratio in plasma and erythrocytes in rats
Acta Pädiat. Scand. 62, 655-659, 1973
53. Matthews D.M., :
Intestinal absorption of aminoacids and peptides
Proc. Nutr. Soc. 31, 171, 1972
54. Mo Menamy R.H., Lund C.C., Neville G.J., :
Studies on unbound amino acid distribution in plasma, ery-
throcytes and urine of normal human subjects
J. Clin. Invest. 39, 1675-1700, 1960
55. Mueller D., :
A new sulfur containing amino acid isolated from casein
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 19, 161, 1921

56. Müller H., Roth K., Quirin H., Kleine N., Kluthe R., :
Umsatz von J^{131} - Transferrin bei eiweißarm ernährten Patienten mit fortgeschrittener Niereninsuffizienz
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 79, 1973
57. Niederwieser A., Curtius H.C., :
Aminosäureanalyse in der klinische Chemie
Ztschr. klin. Chem. u. klin. Biochem. 7, 404-426, 1969
58. Okada M., Kazuliko S., :
Amino acid metabolism in rats fed a high protein diet without Pyridoxine
J. Nutr. 104, 287-293, 1974
59. Quirin H., Jutzler G.A., Traut R., Baumann G., Bischoff G., Kluthe R., :
Serumtransferrin bei chronisch hämodialysierten Patienten unter kontrollierter diätetischer Eiweißzulage
Klin. Wschr. 51, 247, 1973
60. Raica N., Sauberlich H.E., :
Blood cell transaminase activity in human vitamin B₆-deficiency
Am. J. Clin. Nutr. 15, 67-72, 1964
61. Richards P., :
Nitrogen-recycling in uremia : a reappraisal
Clinical Nephrology 3, 5, 1975
62. Richards P., Brown C.L., Houghton B.J., Wrong O.M., :
The incorporation of ammonia nitrogen into albumin in man : the effects of diet, uremia and growth hormone
Clinical Nephrology 3,5, 1975
63. Richards P., :
Nutritional potential of nitrogen recycling in man
Am. J. clin. Nutr. 25, 615, 1972

64. Rose W.C., Oesterling M.J., Womack M., :
Comparative growth on diets containing ten and nineteen
amino acids, with further observations upon the role of
glutamic and aspartic acids
J. Biol. Chem. 176, 753, 1948
65. Rose W.C., :
The amino acid requirements of adult man
N. A. and R. 27, 3, 1957
66. Rubin M.E., Gordon S., :
Individual plasma-free amino acids in uremics : effect of
hemodialysis
Neph. 3, 339-351, 1968
67. Sheerin H.E., Bird F., :
Studies on the competitive absorption of neutral L-amino
acids from the avian small intestine
J. Nutr. 102, 1563-1568, 1972
68. Siddiqui W.A., Trager W., :
Free aminoacids of blood plasma and erythrocytes of normal
ducks infected with malarial parasite, Plasmodium lophurae
Nature 214, 1046, 1967
69. Soupart P., :
Free amino acids of blood and urine in the human
In : Amino acid pools (ed.: Holden J.T.) S. 220-262
Elsevier Publishing Company, Amsterdam 1962
70. Spackman D.H., Stein W.H., Moore S., :
Automatic recording apparatus for use in chromatography
of amino acids
Anal. Chem. 30, 1190-1206, 1956
71. Snell E.E., Fasella P.M., Braunstein H.E., Rossi F., Panella A
Chemical and biological aspects of pyridoxal-catalysis
Pergamon Press, New York 1963

72. Snell E.E., :
Chemical structure in relation to biological activities of
vitamin B₆
Vitamin and Hormones 16, 77, 1958
73. Swendseid M.E., Villalobos J., Friedrich B., :
Free amino acids in plasma and tissues of rats fed a vit-
amin B₆ deficient diet
J. Nutr. 82, 206-208, 1964
74. Tavill A.S., Kershenobich D., :
Regulation of transferrin sythesis
In : Protides of the biological fluids (ed.: Peters H.)
S. 489 Pergamon Press Oxford 1971
75. Towlinson G.S., Westall R.G., :
Arginiosuccinic aciduria. Argininosuccinase and arginase in
human blood cells
Clin. Sci. 26, 261-264, 1964
76. Traina V.M., Sather B.T., :
Effect of starvation on renal function
Lancet ii, 620, 1973
77. Trakatellis A.C., Axelrod A.E., :
Effect of pyridoxine deficiency upon valine incorporation
into tissue proteins of the rat
J. Nutr. 82, 483-488, 1964
78. Tallan H.E., Moore S., Stein W.H., :
Studies on the free amino acids and related compounds in the
tissues of the cat
J. Biol. Chem. 211, 927, 1954
79. Vilenkina G., Braunstein A.E., :
Chemical and biological aspects of pyridoxal-catalysis
Pergamon Press New York 1963

80. Verroust P.J., Curtius J.R., Wing A.J., Eastwood J.B.,
Storey J., Edwards M.S., Wardener H.E., :
Intermittent hemodialysis without routine blood transfusion
Proc. Europ. Dialysis Transplant. Ass. 6, 12, 1967
81. Wada M., :
Isolierung des Citrullins (delta-Carbamido-ornithin) aus
tryptischen Verdauungsprodukten des Caseins
Biochem. Ztschr. 257, 1, 1933
82. Walser M., :
Ketoacids in the treatment of uremia
Clinical nephrology 3,5, 1975
83. Williams M.A., :
Vitamin B₆ and amino acids - recent research in animals
Vitamin and Hormones 22, 561, 1964

Herrn Oberarzt Priv.Doiz. Dr. E. Held möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas, seine wissenschaftlichen Anregungen, sowie für die Arbeitsmöglichkeiten an seinem Labor meinen besonderen Dank sagen.

Frau Ingrid Zatzkowski danke ich ebenfalls recht herzlich für die geleistete technische Assistenz und die zahlreichen Ratschläge bei technischen Problemen.

Lebenslauf

Am 2. Juli 1946 wurde ich, Werner Winkelmann, als erstes Kind der Eheleute Anton und Walburga Winkelmann in Geiselhöring, Kreis Mallersdorf / Ndb., geboren.

Nach fünf Jahren Volksschule besuchte ich von 1957 bis 1966 das Humanistische Gymnasium in Straubing, wo ich auch die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1966/67 begann ich das Studium der Medizin an der Julius - Maximilians - Universität zu Würzburg.

Im Sommersemester 1970 wechselte ich an die Ludwig - Maximilians - Universität zu München, wo ich nach 11 Semester Medizinstudium im Juni 1972 das Staatsexamen mit der Gesamtnote "sehr gut" bestand.

Nach Ableistung der Medizinalassistentenzeit wurde ich am 1. Oktober 1973 als Stabsarzt zur Bundeswehr einberufen.

Die fünfzehnmonatige Wehrpflicht leistete ich an der Sanitätsstaffel der Luftwaffe in Fürstenfeldbruck.

Vom 1. Januar 1975 bis 30. November 1976 war ich als Assistenzarzt am Pathologischen Institut des Städtischen Krankenhauses München - Harlaching. Seit 1. März 1977 bin ich an derselben Krankenanstalt als Assistenzarzt der Chirurgischen Abteilung tätig.

Von 1974 bis 1976 arbeitete ich an der II. Medizinischen Klinik der Universität München (Direktor : Professor Dr. E. Buchborn) an der vorliegenden Arbeit.

